



FS Module

RK20276



www.abclonal.com.cn

Version: N17B22v1.3

目录

1. 产品组分	3
2. 注意事项	3
3. 操作流程	4
4. 附录	6

1. 产品组分

表格 1. 试剂盒组分表

	组分名称	24 RXN	96 RXN
●	FS Pro Buffer I	120 μ L	480 μ L
●	FS Pro Enzymes II	312 μ L	1248 μ L
○	1X TE Buffer	1 mL	10 mL

2. 注意事项

2.1 关于样本

2.1.1. 为了得到良好的建库结果，实验开始前需要确保 DNA 样本的质量合格。并且建议实验开始前用 Qubit[®]或其他基于荧光法定量仪器对 Input DNA 定量。另外需要注意，样本中的杂质，如：微量残留的 RNA、核苷酸、单链 DNA 以及其它污染物都可能会对文库的构建产生影响。

2.1.2. 如样本杂质较多，可以在实验前，使用 2.2X 磁珠进行纯化。

2.2 关于片段化

2.2.1. 样本用 Nuclease-Free Water, 1 \times TE Buffer, EB (Elution Buffer), Low-EDTA TE 等常见溶剂溶解，对于片段化的影响较小，均可正常进行实验。如样本使用特殊溶剂进行溶解，可以尝试进行实验。如无法片段化到预期的大小，建议可以进行一次 2.2X 的磁珠纯化后，将样本溶于 1 \times TE Buffer 或 Nuclease-Free Water。

2.2.2. FFPE DNA 样本或其他严重降解样本，根据其降解程度不同，推荐片段化时间为 5-10 min。

2.2.3. 片段化对温度较敏感，实验时请在冰上操作。反应体系配置完成后，请立即放入 PCR 仪进行反应。

3. 操作流程

3.1 反应体系配置

3.1.1. 在置于冰上的无菌 PCR 管中准备如下反应体系：

表格 2. 片段化反应体系

试剂	体积
Input DNA	X μ L
● FS Pro Buffer I	5 μ L
● FS Pro Enzymes II	13 μ L
○ Nuclease-Free Water	Up to 50 μ L
总体积	50 μ L

3.1.2. 使用移液器上下吹打或震荡，保证体系充分混匀后，短暂进行离心。

3.1.3. 立即将 PCR 管放到提前预热好的 PCR 仪上，根据实验需求选择合适的反应程序，PCR 仪热盖设置为 82°C；在 4°C Hold 建议不超过 1 hr。

3.2 运行反应程序

3.2.1. 如需 32°C 打断后进行热失活处理，请按照“表格 3. 反应程序①”运行。反应结束后可直接进行“末端修复、加 A”反应，具体参考 ABclonal 机械打断建库试剂盒（CAT.NO.RK20208/RK20255/RK20256/RK20271）。如需长期保存，则需磁珠纯化，参考“附录 4.1 热失活后磁珠纯化”步骤。

表格 3. 反应程序①

温度	时间
32°C	5-25 min
72°C	15 min
4°C	建议不超过 1 hr

3.2.2. 如需 32°C 打断后进行 EDTA 终止反应，请按照“表格 4 反应程序②”运行。反应结束后向每个体系中加入 5 μ L 500 mM EDTA，快速涡旋混匀，瞬时离心。反应产物需先经过磁珠纯化后，才可进行下一步“末端修复、加 A”反应。具体参考“附录 4.2 EDTA 终止后磁珠纯化”步骤。

表格 4. 反应程序②

温度	时间
32°C	5-25 min
4°C	建议立即取出

4. 附录

4.1 热失活后磁珠纯化

- 4.1.1. 在 3.2.1 步骤结束后，向每个反应体系中加入 100 μL (2X) AFTMag NGS DNA Clean Beads，充分混匀，室温孵育 5 min。
- 4.1.2. 将 PCR 管置于磁力架上静置 2 min，待溶液澄清后，移除上清（注意不要碰到磁珠）。
- 4.1.3. 加入 200 μL 80%的乙醇漂洗磁珠，孵育 30s 后移除上清。
- 4.1.4. 重复步骤 4.1.3。
- 4.1.5. 保持 PCR 管在磁力架上，使用 10 μL 移液器移除管底残留的乙醇，打开管盖干燥至无乙醇残留。
- 4.1.6. 在 21 μL Nuclease-Free Water 中重悬磁珠，室温静置 1 min，使磁珠上的 DNA 充分释放。
- 4.1.7. 将 PCR 管于磁力架上静置 2 min，转移 20 μL 上清液至一个新 PCR 管中保存，可用于后续实验。纯化后的 DNA 片段化产物可以放置-20°C长期保存，也可以直接衔接常规 DNA 建库试剂盒进行建库实验。

4.2 EDTA 终止后磁珠纯化

- 4.2.1. 在 3.2.2 步骤结束后，向每个反应体系中加入 110 μL (2X) AFTMag NGS DNA Clean Beads，充分混匀，室温孵育 5 min。
- 4.2.2. 将 PCR 管置于磁力架上静置 2 min，待溶液澄清后，移除上清（注意不要碰到磁珠）。
- 4.2.3. 加入 200 μL 80%的乙醇漂洗磁珠，孵育 30s 后移除上清。
- 4.2.4. 重复步骤 4.2.3。
- 4.2.5. 保持 PCR 管在磁力架上，使用 10 μL 移液器移除管底残留的乙醇，打开管

盖干燥至无乙醇残留。

- 4.2.6. 在 21 μL Nuclease-Free Water 中重悬磁珠，室温静置 1 min，使磁珠上的 DNA 充分释放。
- 4.2.7. 将 PCR 管于磁力架上静置 2 min，转移 20 μL 上清液至一个新 PCR 管中保存，可用于后续实验。纯化后的 DNA 片段化产物可以放置 -20°C 长期保存，也可以直接衔接常规 DNA 建库试剂盒进行建库实验。

4.3 片段化反应时间

- 4.3.1 32 $^{\circ}\text{C}$ 片段化反应时间可根据目的片段大小进行调整，具体参考表格 5。

表格 5. 片段化时间 (32 $^{\circ}\text{C}$)：根据需要的目标插入片段大小调整

目标插入片段大小	片段化时间	时间优化范围
225 bp	20 min	18-25 min
250 bp	15 min	13-17min
300 bp	10 min	8-12 min
500 bp	5 min	4-6 min

*注：上述推荐片段化时间，为使用 100ngNA12878 所得。其它类型的高质量 DNA 样本，相同的片段化时间，所得到的片段化产物大小基本一致。FFPE 等降解严重样本，可以适当缩短片段化时间，一般 5min 左右即可。

中国

www.abclonal.com.cn

中国总部：湖北省武汉市江夏区东湖高新区高科园 3 路精准医疗产业基地项目一期
5 号楼

上海分子研发中心：上海市闵行区园美路 58 号紫竹新兴产业技术研究院 2 号楼 4
楼

美国研发中心：86 Cummings Park Dr ,Woburn,MA 01801, United States

电话： 400-999-6126

邮箱： cn.market@abclonal.com