天净沙系列

CAT#:230378

低温运输、-20℃保存

DNA 片段化试剂盒（酶法）

DNA Fragmentation Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品利用酶法对 DNA 进行片段化，然后用做 NGS 的模板。其主要特点如下：

1. 即开即用，用户不用单独购买各种成分并进行优化。
2. 操作简便省时，只需要在起始 DNA 样本中中加入片段化酶，再反应一段时间即可。
3. 跟后续的纯化、克隆和高通测序（NGS）等实验兼容。
4. 提供对照 DNA，足够 5 次实验，便于优化条件或实验不顺时查找原因。
5. 本产品足够 20 次 50 μL 体系的 DNA 片段化反应，每次可以处理 1 μg 的 DNA。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用五孔盒包装

成份	编号	规格	包装
DNA 片段化专用酶	230378a	25 μL	0.5 mL 红盖管
5×DNA 片段化反应液	230378b	250 μL	0.5 mL 绿盖管
DNA 片段化终止液	230378c	200 μL	0.5 mL 黄盖管
人基因组 DNA（男性）溶液，0.1 μg/μL	220146	50 μL	0.5 mL 本色管
超纯水	210806	1 mL	1 mL 蓝盖管
手册	230378sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

电泳上样缓冲液，推荐使用 Orange G 作为电泳示踪剂，因为溴酚蓝（BPB）和二甲苯青（Xylene Cyanol）与 DNA 片段重叠，应避开使用。

使用方法

一、摸索最佳反应时间和温度

1. 由于样本（基因组 DNA，质粒，PCR 片段）不同和所用样本 DNA 纯化试剂盒或方法不同，最佳实验条件可能有所不同，故强烈建议先用待测样本进行预实验。如果样本珍贵且有限，可以用本试剂盒提供的人基因组 DNA（男性）溶液代替，但需要将其浓度调到跟待测样本一样或非常接近。其结果仅供参考，因为样本不同，最佳条件并不一定会完全相同。
2. 将 2 台 PCR 仪的温度分别设定为 4℃和 16℃并开机运行。同时标记 8 个离心管，1 组为 4-1、4-2、4-3 和 4-4。另外 1 组为 16-1、16-2、16-3 和 16-4。每管中加入 5 μL DNA 片段化终止液。在此步还可以提前制备电泳检测用的琼脂糖凝胶，浓度根据所需要分离的 DNA 长度决定。如果长度在 1000 bp 以下，一般建议使用 1.5%的琼脂糖凝胶。
3. 标记 1 个 0.2 mL PCR 反应管中按下表加入各成份：

成分	加入量
5×DNA 片段化反应液	22 μL
试剂盒提供的基因组 DNA （浓度已经调到跟待测样本一致）	N μL（但 DNA 总量为 1 μg）
总体积超纯水	加水到 108 μL

4. 充分轻柔吹打混匀上述混合液。
5. 取 49 μL 混合液到一新的 0.2 mL PCR 管中，立即加入 1 μL DNA 片段化酶，轻柔吹打混匀后，立即放温度预设在 16℃的 PCR 上保温，开始计时。
6. 取另外 49 μL 混合液到另一新的 0.2 mL PCR 管中，立即加入 1 μL DNA 片段化酶，轻柔吹打混匀后，立即放温度预设在 4℃的 PCR 上保温，开始计时。
7. 每 10 分钟取 10 μL 反应液到预装了 5 μL 的反应管中。4℃ PCR 反应管中的样本取到编号是 4-的 4 个管中，第 1 次取样到 4-1 号管，第 2 次取样到 4-2 号管。以此类推。16℃ PCR 反应管中的样本取到编号是 16-的 4 个管中，第 1 次取样到 16-1 号管，第 2 次取样到 16-2 号管。以此类推。
8. 待两组样本第 4 次取样均完成后，在所有 8 个样本管中加入自备的 DNA 电泳上样液后一起进行琼脂糖电泳。胶的外侧孔必须各合适的电泳分子量对照以便分析酶切结果。
9. 根据实验结果（所得酶切产物的分子量范围）判断待测样本的最佳酶切时间和温度。

二、在最佳酶切时间和温度下进行 DNA 片段化

10. 严格按预实验所得最佳条件进行 50 μL 体系正式实验。
11. 反应结束后，加入 5 μL DNA 片段化终止液并吹打混匀。
12. 取 10 μL 进行电泳检测，确保 DNA 片段在所需的分子量范围。
13. 对剩余溶液进行后续纯化回收和克隆测序等分析。本方法所得 DNA 绝大部分为平末端。

关联产品	DNase I 溶液