

Library Preparation VAHTS™ End Repair Module for Illumina®

N203-01/02

Version 4.1



Vazyme biotech co., Ltd.

产品简介

VAHTS™ End Repair Module for Illumina®是针对Illumina高通量测序平台文库构建定向优化而成的试剂盒。使用本试剂盒可以高效修复1 µg – 5 µg片段化DNA(雾化打断法、超声破碎法或酶解法制备)的末端，修复产物为平末端，且包含5'磷酸基团和3'羟基基团。试剂盒中的主要成分以预混液的形式提供，使用方便且容错率高，极大的简化了实验流程。修复产物可使用VAHTS™ dA-Tailing Module for Illumina® (Vazyme, #N204)进行dA加尾反应，也可以直接用于平端克隆或平端接头连接反应。试剂盒中提供的所有试剂都经过严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了文库构建的稳定性和重复性。

产品组成

组 分	N203-01 (24 rxn)	N203-02 (96 rxn)
VAHTS End Repair Enzyme Mix	120 µl	480 µl
VAHTS End Repair Reaction Buffer (10 ×)	240 µl	960 µl

贮存及有效期

所有组分-20°C保存，有效期一年。

适用范围

可高效修复1 µg – 5 µg片段化DNA的末端，修复产物为平端，包含5'端磷酸基团和3'端羟基基团，适用于Illumina高通量测序平台文库构建。

使用方法

实验材料：1 µg – 5 µg片段化DNA (100-1000 bp, ≤85 µl)

1. 在灭菌PCR管中配制如下反应：

VAHTS End Repair Reaction Buffer (10 ×)	10 µl	■
VAHTS End Repair Enzyme Mix	5 µl	■
片段化DNA	x µl	
ddH ₂ O	To 100 µl	

2. 使用移液器轻轻吹打混匀(请勿震荡混匀)，并短暂离心将反应液收集至管底。

3. 将反应管置于PCR仪中，进行下述反应：

热盖On, 105°C
20 °C, 30 min

4. 修复产物纯化。

质量控制

VAHTS End Repair Enzyme Mix

SDS-PAGE纯度：所有酶组分纯度>95%。

核酸内切酶残留：50 μl反应体系中加入10 μl本酶和1 μg φX174 RF I DNA，37°C下孵育4小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，RF II转化比率<10%。

磷酸酶活性检测：在磷酸酶活性检测缓冲液中加入10 μl本酶和2.5 mM对硝基苯磷酸，37°C下孵育4小时。经光谱测定法检测，405 nm处无对硝基苯阴离子特征吸收峰。

功能性活性检测：在1 × End Repair Reaction Buffer中加入5 μl本酶和10 μg包含5'和3'突出末端的片段化DNA，20°C下反应30分钟。经毛细管电泳检测，末端修复并磷酸化的DNA比率>95%。

VAHTS End Repair Reaction Buffer (10 ×)

16小时孵育检测：50 μl反应体系中包含1 × End Repair Reaction Buffer和1 μg HindIII-ADNA，37°C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解；50 μl反应体系中包含1 × End Repair Reaction Buffer和1 μg T3 DNA，37°C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解。

核酸内切酶残留：50 μl反应体系中包含1 × End Repair Reaction Buffer和1 μg φX174 RF I DNA，37°C下孵育4小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，RF II转化比率<10%。

RNase活性残留：在1 × End Repair Reaction Buffer中加入40 ng FAM-RNA，37°C下孵育16小时。经聚丙烯酰胺凝胶电泳检测，条带无降解。

磷酸酶活性检测：在磷酸酶活性检测缓冲液中加入1 × End Repair Reaction Buffer和2.5 mM对硝基苯磷酸，37°C下孵育4小时。经光谱测定法检测，405 nm处无对硝基苯阴离子特征吸收峰。

VAHTS™ End Repair Module for Illumina®

所有批次均进行DNA文库构建并在Illumina测序平台上进行测序验证。