



MagicSeq Tn5 DNA Library Prep

Kit for Illumina (for 1ng DNA)

Magicbio # M311



产品介绍

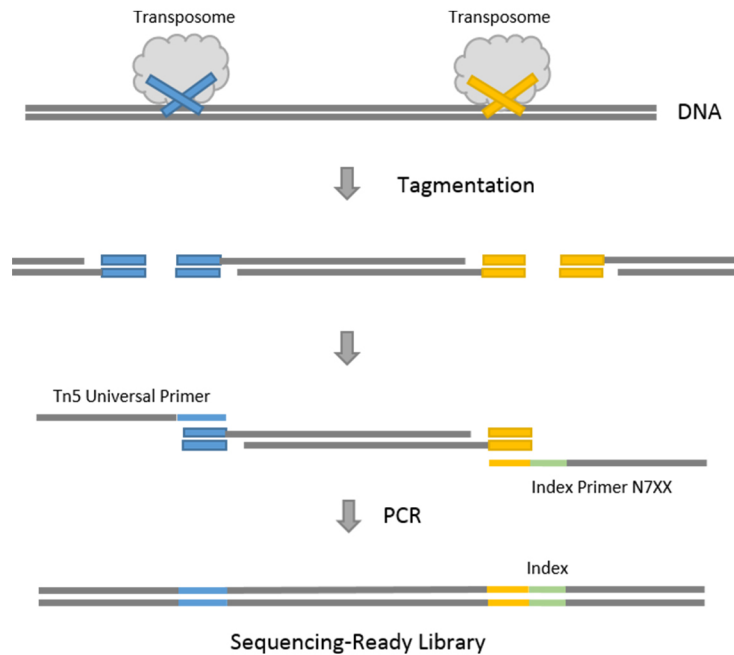
MagicSeq Tn5 DNA Library Prep Kit for Illumina是针对Illumina测序平台开发的DNA文库构建试剂盒。试剂盒极大的简化了DNA小片段文库构建过程，使用一步简单的酶促反应替代了传统DNA文库构建过程中的片段化、末端修复以及接头连接反应等步骤，显著缩短了文库构建的时间。仅需1.5h即可将1ng DNA构建成为高质量的DNA文库。试剂盒操作简单，避免了繁杂操作带来的误差，构建的文库均一性高。

试剂盒组成

产品成分	M3111 (24 rxn)	M3112 (96 rxn)
5×Tagment Buffer	96 μ l	384 μ l
Tn5 Tagment Enzyme	120 μ l	480 μ l
Stop Solution	120 μ l	480 μ l
Tn5 PCR Master Mix	720 μ l	1.5 mL x 2
Tn5 Universal Primer	60 μ l	240 μ l
Tn5 Index Primer	24管×2.5 μ l	96管×2.5 μ l

保存条件 -20°C保存

实验原理图



注意事项

1. 试验前请仔细阅读本说明书，确保实验顺利完成。
2. 操作过程请注意避免核酸样品和产物之间的交叉污染。
3. 请使用无核酸酶的枪头、EP管进行试验
4. DNA浓度需使用Qubit等染料法测定，起始DNA量测定不准确，会影响文库得率；
5. 实验所用磁珠应提前30分钟自4°C环境中取出，平衡至室温。所有磁珠操作均需置于室温。
6. Stop Solution在使用前，请确保其回复室温，如有沉淀析出，请放置37°C加热混匀，使沉淀溶解。
7. 80%乙醇需现配现用，用其清洗磁珠后，需清除干净，避免对后续反应产生影响。
8. 试剂盒中提供的阳性对照DNA浓度为10ng/uL，可稀释后取1ng用于建库的阳性对照。稀释后的低浓度DNA易被管壁吸附造成浓度变化，请勿长期保存重复使用。

需自备材料

无水乙醇；Nuclease-Free H₂O；Magic DNA Select Beads（DNA片段分选纯化磁珠）或效果相同的磁珠；200uL PCR管；1.5mL离心管；磁力架；PCR仪

操作步骤

1 样本片段化反应：

1. 在新的PCR管中冰上配制如下反应体系：

组份	体积
DNA样品 (1ng)	X μ L
5×Tagment Buffer	4 μ L
Tn5 Tagment Enzyme	5 μ L
Nuclease-Free H ₂ O	(11-X) μ L
总体积	20.0 μ L

2. 移液器轻轻吹打20次充分混匀，55°C反应5分钟，热盖70°C；

3. 反应结束后立即加入5uL Stop Solution并且充分混匀，室温静置5min；

2 PCR扩增

1. 为每个样本编排不同的Index，在转座反应产物中加入以下试剂：

组份	体积
上步反应产物	25 μ L
Tn5 PCR Master Mix	30 μ L
Tn5 Universal Primer	2.5 μ L
Tn5 Index Primer	2.5 μ L
总体积	60.0 μ L

2. 充分混匀后在PCR仪中，进行如下反应：

温度	时间	循环数
72°C	3min*	} 11-15Cycles*
95°C	2min	
95°C	15s	
60°C	30s	
72°C	30s	
72°C	3min	

*72°C孵育步骤用于进行链置换反应，请勿删除该步骤。

样本起始量为1ng，推荐扩增反应的循环数为15，可根据实际文库产出调整。

3. 反应结束后取出，进行片段筛选。

3 文库片段大小筛选

磁珠用量需根据目标文库片段大小调整，具体用量参照表一：

1. 使用Nuclease-Free H₂O将PCR产物补足至60μL。
(因PCR反应中会使反应体系发生变化，此步骤非常重要，体积不准确会导致筛选后的片段长度范围有偏差)。
2. 将室温放置30min后的Magic DNA Select Beads涡旋震荡混匀，吸取R1体积的Magic DNA Select Beads加入PCR产物中，移液器轻轻吹打10次充分混匀，室温放置5min；
3. 将样品管短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体，待溶液澄清转移上清至干净离心管中，丢弃磁珠；
4. 向上清中加入R2体积的Magic DNA Select Beads，移液器轻轻吹打10次充分混匀，室温孵育5min；
5. 短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体约5min，待溶液澄清移除上清；
6. 保持离心管始终处于磁力架上，加入200μL 80% 乙醇漂洗磁珠，室温静置30s后移除上清；
7. 重复步骤6，总计漂洗两次；短暂离心，用10μL移液器吸去剩余乙醇；
8. 保持离心管始终处于磁力架上，开盖空气干燥磁珠至刚刚出现龟裂；
9. 将离心管从磁力架中取出，加入22μL Nuclease-Free H₂O洗脱，涡旋振荡或使用移液器轻轻吹打充分混匀，室温静置2min；
10. 将离心管短暂离心并置于磁力架中分离磁珠和液体，待溶液澄清，吸取20μL上清至干净的0.2mL PCR管中；

表一 片段分选参照表

文库平均总长度	~370 bp	~480 bp	~650 bp
文库平均插入长度	~250 bp	~350 bp	~530 bp
文库总长度分布范围	250~500 bp	300~700 bp	400~900 bp
第一轮磁珠用量	R1=42μL	R1=36μL	R1=30μL
第二轮磁珠用量	R2=9μL	R2=9μL	R2=9μL

4 文库质检

推荐使用凝胶电泳或者Agilent生物分析仪等检测文库片段分布、使用qPCR进行浓度检测。

表二 文库产出参照表

扩增循环数	11	12	13	14	15
文库产出（不进行片段分选，ng）	230	400	600	1000	1600

文库结构

文库结构如下：

5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC[TAGATCGC]TCGTCTCGGCGAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-nnnnnnn-CTGTCTCTTATACACATCTCCGAGCCACGAGACXXXXXXXXATCTCGTATGCCGTCTTCTGCTTG-3'

注：nnnnnnn 为插入序列

XXXXXXXX为index序列

附表 Index 序列

Index名称	index序列	Index名称	index序列	Index名称	index序列	Index名称	index序列
Index 01	ATCACGTT	Index 25	TGCGATCT	Index 49	TGTCTATC	Index 73	GCAACATT
Index 02	CGATGTTT	Index 26	TTCCTGCT	Index 50	TATGTGGC	Index 74	GGTCGTGT
Index 03	TTAGGCAT	Index 27	TAGTGACT	Index 51	TTACTCGC	Index 75	GAATCTGT
Index 04	TGACCACT	Index 28	TACAGGAT	Index 52	TCGTTAGC	Index 76	GTACATCT
Index 05	ACAGTGGT	Index 29	TCCTCAAT	Index 53	TACCGAGC	Index 77	GAGGTGCT
Index 06	GCCAATGT	Index 30	TGTGGTTG	Index 54	TGTTCTCC	Index 78	GCATGGCT
Index 07	CAGATCTG	Index 31	TACTAGTC	Index 55	TTCGCACC	Index 79	GTTAGCCT
Index 08	ACTTGATG	Index 32	TTCCATTG	Index 56	TTGCGTAC	Index 80	GTCGCTAT
Index 09	GATCAGCG	Index 33	TCGAAGTG	Index 57	TCTACGAC	Index 81	GGAATGAT
Index 10	TAGCTTGT	Index 34	TAACGCTG	Index 58	TGACAGAC	Index 82	GAGCCAAT
Index 11	GGCTACAG	Index 35	TTGGTATG	Index 59	TAGAACAC	Index 83	GCTCCTTG
Index 12	CTTGTA CT	Index 36	TGAACTGG	Index 60	TCATCCTA	Index 84	GTAAGGTG
Index 13	TGGTTGTT	Index 37	TACTTCGG	Index 61	TGCTGATA	Index 85	GAGGATGG
Index 14	TCTCGGTT	Index 38	TCTCACGG	Index 62	TAGACGGA	Index 86	GTTGTCCG
Index 15	TAAGCGTT	Index 39	TCAGGAGG	Index 63	TGTGAAGA	Index 87	GGATTAGG
Index 16	TCCGTCTT	Index 40	TAAGTTCG	Index 64	TCTCTTCA	Index 88	GATAGAGG
Index 17	TGTACCTT	Index 41	TCCAGTCG	Index 65	TTGTTCCA	Index 89	GTGTGTCC
Index 18	TTCTGTGT	Index 42	TGTATGCG	Index 66	TGAAGCCA	Index 90	GCAATCCG
Index 19	TCTGCTGT	Index 43	TCATTGAG	Index 67	TACCACCA	Index 91	GACCTTAG
Index 20	TTGGAGGT	Index 44	TGGCTCAG	Index 68	TGCGTGAA	Index 92	GCCTGTTC
Index 21	TCGAGCGT	Index 45	TATGCCAG	Index 69	GGTGAGTT	Index 93	GCACTGTC
Index 22	TGATACGT	Index 46	TCAGATTC	Index 70	GATCTCTT	Index 94	GCTAACTC
Index 23	TGCATAGT	Index 47	TAGTCTTG	Index 71	GTGTCCTT	Index 95	GATTCATC
Index 24	TTGACTCT	Index 48	TTCAGCTC	Index 72	GACGGATT	Index 96	GTCTTGCC

