

## 产品概述

Fast DNA Library Preparation Kit V2是专门针对高通量测序平台文库构建所开发的一款快速DNA建库试剂盒。该试剂盒基于宝锐定向进化的耐高温工具酶,配合特殊的接头结构,将基因组DNA文库构建流程缩短到3h以内。本试剂盒仅需经过核酸片段化及预扩增、文库扩增两个步骤即可完成对基因组文库的构建。

## 产品信息

产品名称	货号	规格
Fast DNA Library Preparation Kit V2 (快速 DNA 建库试剂盒)	BR3D504-01	8T
	BR3D504-03	24T
	BR3D504-06	96T

## 产品组分

	组分名称	组分编号	8T	24T	96T
A 盒	5× NAP Solution	3D504-A	32μL	96μL	384μL
	NI Enzyme	3D504-B	8μL	24μL	96μL
	Rapid-Amp Enzyme	3D504-C	8μL	24μL	96μL
	Amp Primer Mix	3D504-D	8μL	24μL	96μL
	3× Amp HFD Buffer	3D504-E	160μL	480μL	2×960μL
	AmpHifi FD Enzyme	3D504-F	8μL	24μL	96μL
B 盒	Index	BR3N101	8×3μL	12×6μL	48×6μL

备注: 8T 试剂盒自带 8 种不同 Index; 24T 试剂盒自带 12 种不同 Index; 96T 试剂盒自带 48 种不同 Index; Index 序列信息详见附录。

## 保存条件

试剂盒储存于-20±5℃, 有效期为 12 个月。冰袋或干冰运输。使用前请充分混匀, 并避免反复冻融。

## 适用范围

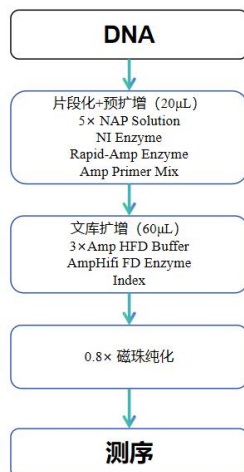
本产品可适用于 FFPE、组织、细胞培养物、微生物等样本提取的 DNA 文库构建, 对于降解严重的单链 DNA 也具有极好的适用性。经本试剂盒构建的文库适用于 illumina 测序平台。

## 自备材料

需自备的试剂: 无核酸酶水(DNase、RNase free)、DNA 纯化磁珠、无水乙醇(分析纯)。  
 需要自备的仪器设备包括: 核酸定量仪、磁力架、移液枪、PCR 扩增仪、振荡器、微型离心机等。

需要自备的耗材包括: 1.5mL 离心管、0.2mL PCR 管、枪头、50mL 离心管等。

## 操作流程



## 使用方法

### 1. 核酸片段化及预扩增

1.1 将 5× NAP Solution 和 Amp Primer Mix 室温或冰面上解冻, 轻微震荡混匀后瞬时离心置于冰上备用, Rapid-Amp Enzyme 和 NI Enzyme 用手指轻弹混匀瞬时离心后置于冰上备用。在冰盒上按照表 1 配制反应液:

表 1 核酸片段化及预扩增反应体系

组分名称	体积 (μL)
核酸模板 <sup>a</sup>	X
5× NAP Solution	4
Rapid-Amp Enzyme	1
NI Enzyme	1
Amp Primer Mix	1
Nuclease-free water	13-X
Total	20

注: a 核酸模板总量按照实验实际需要添加, 可兼容 0.5ng-100ng 核酸投入量。

1.2 使用移液器吹打混匀或轻微震荡混匀后, 瞬时离心将管壁反应液离心至管底, 根据表 2 在 PCR 仪上设置程序并启动反应:

表 2 核酸片段化及预扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
1	30°C	5min	1cycle
2	95°C	5min	1cycle
3	95°C	15s	12-15cycles
4	15°C	50s	
5	25°C	40s	
6	35°C	30s	
7	65°C	40s	
8	75°C	40s	
9	4°C	∞	

## 2. 文库扩增

2.1 将 3x Amp HFD Buffer 和 Index<sup>b</sup> 室温或冰面上解冻后，轻微震荡混匀后瞬时离心。  
AmpHifi FD Enzyme 用手指轻弹混匀瞬时离心后置于冰上备用。按照表 3 配制反应液：

表 3 文库扩增反应体系

组分名称	体积 (μL)
上一步产物	20
3x Amp HFD Buffer	20
AmpHifi FD Enzyme	1
Index X <sup>b</sup>	3
Nuclease-free water	13
Total	60

注 b: index 接头单独添加，序列信息详见附录；

2.2 使用移液器轻轻吹打混匀或轻微震荡混匀后，瞬时离心将管壁反应液离心至管底，根据表 4 在 PCR 仪上设置程序并启动反应：

表 4 文库扩增反应程序

程序	温度	时间	循环数
热盖	105°C	/	/
1	98°C	1min	1cycle
2	98°C	10s	12-15cycles
3	63°C	30s	
4	72°C	40s	

5	4°C	∞	
---	-----	---	--

### 3. 磁珠纯化

- 3.1 涡旋混匀室温平衡 30min 的 DNA 磁珠，添加 48μL（0.8 倍体积）至 PCR 产物中，涡旋混匀，室温静置 5min；
- 3.2 短暂离心，将样本置于磁力架上 2min 至液体澄清，小心吸弃上清；
- 3.3 加入 180μL 80%乙醇，并以顺时针方向旋转离心管以充分洗涤磁珠，小心吸弃上清；
- 3.4 重复步骤 3.3 一次；
- 3.5 短暂离心后，小心吸弃残液，室温烘干至磁珠表面哑光；
- 3.6 加入 22μL 无核酸酶水，涡旋混匀 10s，确保磁珠混匀，室温静置 2min；
- 3.7 短暂低速离心后置于磁力架上 2min 至液体澄清，小心吸取 20μL 上清溶液至新的 1.5mL 离心管中。

### 4. 文库质检

- 4.1 文库浓度测定：使用 Qubit 4.0 Fluorometer 及 Qubit dsDNA HS Assay Kit 检测文库浓度。
  - 4.2 文库片段分布检测：将制备好的文库在 Qsep1 全自动核酸蛋白分析仪上或通过琼脂糖凝胶电泳进行片段分布检测。文库片段应分布在 200-1000bp 之间。
- 注：纯化后的文库若不能立即上机测序，可置于-20°C保存。

### 注意事项

1. 请使用无核酸酶污染的耗材，并对实验区域定期进行清理。
2. 文库构建所需要的其他试剂需自备或另外购买。
3. 本产品仅用作科研用途。

### 附录：【接头引物序列信息表】

单端 Index 序列信息表

单端接头编号	序列 (5'to3')	单端接头编号	序列 (5'to3')
Index1	TCGCCTTA	Index25	CTATCGCT
Index2	CTAGTACG	Index26	TTAATCGC
Index3	TTCTGCCT	Index27	TTCTGAAT
Index4	GCTCAGGA	Index28	GATTATTC
Index5	AGGAGTCC	Index29	CTGATTAA
Index6	CATGCCTA	Index30	AATGAGCG
Index7	GTAGAGAG	Index31	TTCGCGGA
Index8	CCTCTCTG	Index32	CGAGTAAT
Index9	AGCGTAGC	Index33	TAAGCAGT
Index10	CAGCCTCG	Index34	AGCCGCAT
Index11	TGCCTCTT	Index35	AGAGAGGC
Index12	TCCTCTAC	Index36	CCTACGGC

Index13	TAGATCGC	Index37	CCGCGGTT
Index14	CTCTCTAT	Index38	TTATAACC
Index15	TATCCTCT	Index39	GGACTTGG
Index16	AGAGTAGA	Index40	AAGTCCAA
Index17	GTAAGGAG	Index41	ATCCACTG
Index18	ACTGCATA	Index42	GCTTGTCA
Index19	AAGGAGTA	Index43	CAAGCTAG
Index20	CTAAGCCT	Index44	TGGATCGA
Index21	TCTCCGGA	Index45	AGTTCAGG
Index22	AGCTTCAG	Index46	GACCTGAA
Index23	GAGCTACG	Index47	TCTCTACT
Index24	ACGAATTC	Index48	CTCTCGTC

注：Index 序列方向为引物合成方向。

双端 Index 序列信息表

双端 index 引物编号	I5 index 序列 (5'to3')	I7 index 序列 (5'to3')	双端 index 引物 编号	I5 index 序列 (5'to3')	I7index 序列 (5'to3')
B001	AGCGCTAG	TCGCCTTA	B025	AGCGCTAG	CTATCGCT
B002	GATATCGA	CTAGTACG	B026	GATATCGA	TTAATCGC
B003	CGCAGACG	TTCTGCCT	B027	CGCAGACG	TTCTGAAT
B004	TATGAGTA	GCTCAGGA	B028	TATGAGTA	GATTATTC
B005	AGGTGCGT	AGGAGTCC	B029	AGGTGCGT	CTGATTAA
B006	GAACATAC	CATGCCTA	B030	GAACATAC	AATGAGCG
B007	ACATAGCG	GTAGAGAG	B031	ACATAGCG	TTCGCGGA
B008	GTGCGATA	CCTCTCTG	B032	GTGCGATA	CGAGTAAT
B009	TGCTTATC	AGCGTAGC	B033	TGCTTATC	TAAGCAGT
B010	CCTAATAG	CAGCCTCG	B034	CCTAATAG	AGCCGCAT
B011	GTACGCCA	TGCCTCTT	B035	GTACGCCA	AGAGAGGC
B012	AAGGCGGT	TCCTCTAC	B036	AAGGCGGT	CCTACGGC
B013	AGCGCTAG	TAGATCGC	B037	AGCGCTAG	CCGCGGTT
B014	GATATCGA	CTCTCTAT	B038	GATATCGA	TTATAACC
B015	CGCAGACG	TATCCTCT	B039	CGCAGACG	GGACTTGG
B016	TATGAGTA	AGAGTAGA	B040	TATGAGTA	AAGTCCAA
B017	AGGTGCGT	GTAAGGAG	B041	AGGTGCGT	ATCCACTG
B018	GAACATAC	ACTGCATA	B042	GAACATAC	GCTTGTCA
B019	ACATAGCG	AAGGAGTA	B043	ACATAGCG	CAAGCTAG
B020	GTGCGATA	CTAAGCCT	B044	GTGCGATA	TGGATCGA
B021	TGCTTATC	TCTCCGGA	B045	TGCTTATC	AGTTCAGG
B022	CCTAATAG	AGCTTCAG	B046	CCTAATAG	GACCTGAA

货号：BR3D504

Fast DNA Library Preparation Kit V2

2025V2



B023	GTACGCCA	GAGCTACG	B047	GTACGCCA	TCTCTACT
B024	AAGGCGGT	ACGAATTC	B048	AAGGCGGT	CTCTCGTC

注：Index 序列方向为引物合成方向。