

EZ-Tera™ XT DNA Library Prep Kit for Illumina

제품설명서

Cat. EZ036 EZ-Tera™ XT DNA Library Prep Kit

* Accessory product

Cat. EZ037 EZ-Tera™ Index Kit (24 Indexes) 별도 판매

For research use only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.

목 차

I. 제품 설명	3
II. 제품 구성 및 보관 조건	4
III. 실험 방법	5

I. 제품 설명

Enzynomics 의 EZ-Tera™ XT DNA Library Prep Kit 는 단일효소 반응을 이용한 제품으로, 소량의 (1~20 ng) DNA 로 adaptor 연결까지 15분 만에 반응을 완료할 수 있습니다. Small genome, plasmid, microbial genome, PCR product (> 300 bp) 등의 작은 크기의 DNA 가 sample 로 적합합니다. 본 제품은 master-mix 형태의 효소를 제공함으로써 제품 구성을 간소화하고 효율성을 높였습니다. Library 는 transposome 효소를 이용한 tagmentation 과정으로 DNA 를 fragmentation 하고 adaptor 를 연결하여 제작합니다. 연결된 adaptor 의 염기서열을 이용하여 PCR 단계에서 증폭하고 DNA 양쪽 말단에 index 를 연결함으로써 dual-indexed sequencing 이 가능합니다.

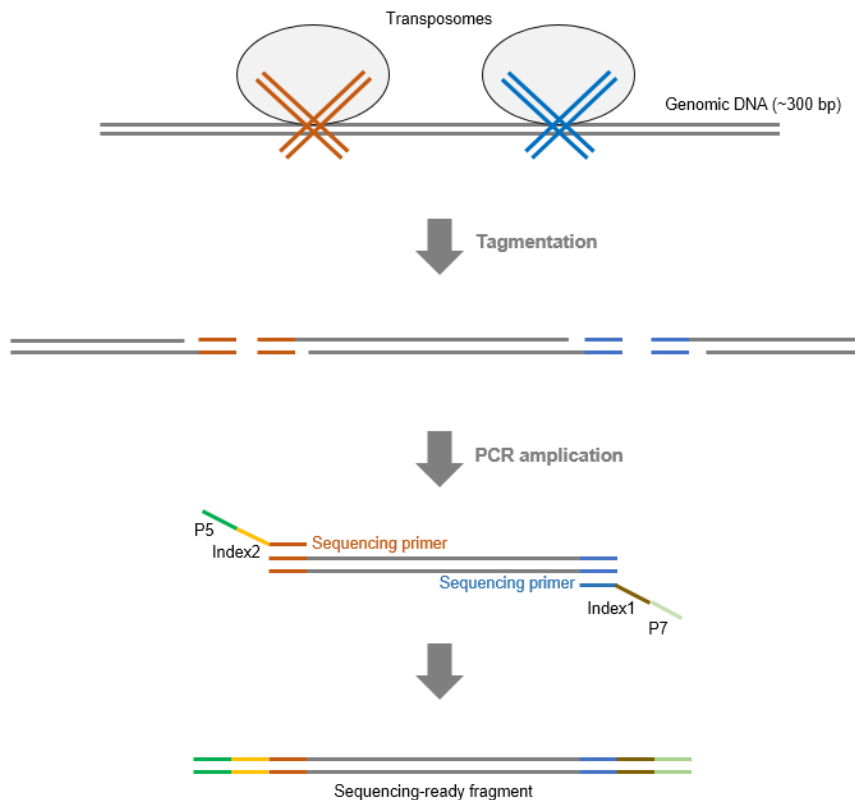


그림 1. Library 제작 과정 모식도

II. 제품 구성 및 보관 조건

제품명	Cat. #	용량
EZ-Tera™ XT DNA Library Prep Kit	EZ036	24 reactions
EZ-Tera™ Index Kit (24 Indexes)	EZ037	10 tubes

※ 본 kit 는 **normalization** 에 관련된 시약을 포함하지 않습니다.

1. EZ-Tera™ XT DNA Library Prep Kit 구성품

구성품	용량	보관온도
Amplicon Tagment Mix	120 μ l	-20°C
Tagment DNA Buffer	240 μ l	-20°C
PCR Master Mix	360 μ l	-20°C
Neutralize Tagment Buffer	120 μ l	-20°C 배송 개봉 후 4°C 보관

2. EZ-Tera™ Index Kit (24 Indexes) 구성품

구성품	용량	보관온도
Index Primer S502	120 μ l	-20°C
Index Primer S503	120 μ l	-20°C
Index Primer S504	120 μ l	-20°C
Index Primer S517	120 μ l	-20°C
Index Primer N701	80 μ l	-20°C
Index Primer N702	80 μ l	-20°C
Index Primer N703	80 μ l	-20°C
Index Primer N704	80 μ l	-20°C
Index Primer N705	80 μ l	-20°C
Index Primer N706	80 μ l	-20°C

III. 실험 방법

1. DNA 준비

- 이 제품은 1~20 ng 의 DNA 로 library 를 제작에 최적화되었습니다. 최상의 결과를 위해 DNA 를 정확한 방법으로 정량하고 TE buffer 에 희석하여 준비합니다.

2. Genomic DNA tagmentation

- ① 아래와 같은 조성으로 혼합 후 55°C 에서 5분간 반응합니다.

반응 조성	용량
Tagment DNA Buffer	10 μ l
Normalized genomic DNA (0.2~4 ng/ μ l)	5 μ l
Amplicon Tagment Mix	5 μ l
Total volume	20 μ l

- ② 위 1차 반응액을 사용하여 아래 조성과 같이 혼합 후 25°C 에서 5분간 반응합니다.

반응 조성	용량
1차 반응액	20 μ l
Neutralize Tagment Buffer	5 μ l
Total volume	25 μ l

3. DNA amplification

- ① 아래와 같은 조성으로 혼합합니다.

반응 조성	용량
Tagmentation 반응산물	25 μ l
Index 1	5 μ l
Index 2	5 μ l
PCR Master Mix	15 μ l
Total volume	50 μ l

② 아래와 같은 PCR 조건으로 반응합니다.

온도	시간	Cycle 수
72°C	3 분	-
95°C	30 초	-
95°C	10 초	12
55°C	30 초	
72°C	30 초	
72°C	5 분	-
10°C	∞	-

※ 중지 가능지점) 본 단계에서 실험을 중지할 경우 4°C 에서 2일간 보관 가능합니다.

4. Clean Up Amplified DNA

- 본 단계에서 magnetic bead 를 이용하여 library DNA 를 정제하고 작은 크기의 DNA 를 제거하는 과정을 수행합니다.

- 별도 준비: EZ-Pure™ SPRI Bead Mix (Cat. EZ035), 80% Ethanol

- EZ-Pure™ SPRI Bead Mix 를 완전히 혼합된 상태로 준비합니다.
- PCR 반응 산물 50 μ l 에 분석하고자 하는 DNA 크기에 따라 아래와 같은 조성으로 bead 를 혼합합니다.

Input size	DNA : Bead 비율	EZ-Pure™ SPRI Bead Mix Volume
200 bp 이상	1 : 1.8	90 μ l
500 bp 이상	1 : 0.6	30 μ l
Genomic DNA	1 : 0.6	30 μ l

- 상온에서 5분간 반응합니다.
- Magnetic stand 에 tube 를 고정하고 sample 이 투명해지면 상층액을 제거합니다.
- Magnetic stand 에 tube 를 고정한 채로 80% ethanol 200 μ l 를 이용하여 2 회 세척합니다.
- Ethanol 이 남아 있지 않도록 상온에 5분간 건조합니다.
- Resuspension Buffer 52.5 μ l 를 넣고 vortexing 후 2분간 반응합니다.
- Magnetic stand 에 고정하여 투명해지면 상층액 50 μ l 를 새 tube 에 옮깁니다.

※ 중지 가능지점) 본 단계에서 실험을 중지할 경우 -20°C 에서 7일간 보관 가능합니다.

※ 책임의 한계

Enzynomics 는 어떠한 경우에도 본 제품의 사용, 사용 결과 또는 본 제품을 사용하지 못함으로 인해 발생하는 직접, 간접, 파생적 또는 부수적 손해에 대한 책임을 지지 않습니다.