**DNA双链片段化酶**

**货号：KTSM2501 - KTSM2502**

**■ 产品描述：**

DNA双链片段化酶是时间依赖型酶，能根据不同作用时间将 dsDNA 切割成50~1,000 bp片段。DNA双链片段化酶由两种酶组成，一种酶随机的在 dsDNA 上产生切割，另一种酶识别切割处并在对链进行切割，产生 dsDNA 片段。所得DNA片段含有极短突出末端，5´ 含磷酸基，3´ 含羟基。经过文库制备及测序验证， DNA双链片段化酶具有随机切割特性。比较使用该酶与使用机械法制备的基因组 DNA 文库，测序结果没有显示偏嗜性，测序覆盖也无区别。

**■ 产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **KTSM2501（24rxn）** | **KTSM2502（96rxn）** |
| dsDNA Fragmentase | 48 μl | 192 μl |
| 10🞨Fragmentase Reaction Buffer | 48 μl | 192 μl |
| 200 mM MgCl2 | 24 μl | 96 μl |

**■ 储存条件：**

-20℃保存

**■ 适用范围：**

（1）为二代测序制备双链DNA；

（2）为文库构建制备双链DNA片段。

**■ 使用方法：**

（1）涡旋dsDNA Fragmentase 3s，短暂离心并置于冰上；

（2）在无菌PCR管中配制以下体系：

|  |  |
| --- | --- |
| **组分** | **体积** |
| DNA（5ng~3μg） | 1~16 μl |
| 10🞨Fragmentase Reaction Buffer | 2 μl |
| ddH2O | add to 18 μl |

（3）加入2 μl dsDNA Fragmentase并将混合物涡旋3s。（注：片段酶非常粘稠，使用时应该慢慢移液。如果酶已经静置几分钟，则在加入样品之前再次涡旋）；

（4）根据所需的片段大小，按照下面推荐的时间进行37℃孵育：

|  |  |
| --- | --- |
| **Desired Fragment Size (bp)** | **Incubation Time (min)** |
| 50~200 | 25~35 |
| 200~1,000 | 15~25 |
| 1,000~2,000 | 10~15 |

（5）孵育完后，加入5 μl 0.5M EDTA终止反应；

（6）用柱纯化或使用磁珠纯化片段化的DNA。如果使用磁珠，建议用无菌水1：1稀释样品，以便更容易处理样品，并能更快地将磁力架收集磁珠。

**■ 其他注意事项：**

（1）末端修复：末端修复前需纯化片段化的DNA；

（2）聚丙烯酰胺凝胶分析：聚丙烯酰胺凝胶分析需纯化片段化的DNA

（3）长期储存：在长期储存前需纯化片段化的DNA；

（4）琼脂糖凝胶大小选择/分析：片段化的DNA样品可以直接加载到琼脂糖凝胶上进行电泳。