产品概述

AlNoVar™ UNIPre DNA Library Prep Kit 快速 DNA 建库试剂盒 V1 适用于 Illumina、MGI、铭毅智造等 NGS 测序平台。本试剂盒采用圆形样本板的预分装试剂，包含片段 DNA 末端修复、及加 A 尾，接头连接和高保真 PCR 富集等建库过程的所有试剂，无需手工配置试剂。搭配铭毅智造的全自动基因测序文库制备仪 UNIPre，实现“样本进、产物出”的全自动化建库流程，摆脱了繁琐的手工操作。同时独立的机械操作空间和一次性的封闭式耗材最大程度避免样本间污染，得到高质量文库。

产品货号

MS8101-24

试剂盒组成

管盖颜色	组分	装量			试剂盒名称
		规格	货号	装量	
透明底盒	End Prep Buffer	24T/盒	MS8101-24	12 μL	试剂盒 1
	2×HiFi PCR Master Mix			25 μL	
	Ligation Buffer			30 μL	
	DNA Ligase			5 μL	
	Truncated Adapter for Illumina			5 μL	
	Nuclease-Free Water			150 μL	
	Mineral Oil			150 μL	
	Nuclease-Free Water			150 μL	
	Nuclease-Free Water			150 μL	
	80% Ethanol			450 μL	
	End Prep Enzyme			3 μL	
	Nuclease-Free Water			1.4mL	
	80% Ethanol			600 μL	
透明色	DNA Clean Beads			3.24mL	试剂盒 2
白色	Nuclease-Free Water			960 μL	
	组合圆筒			24 个	试剂盒 3

产品运输与保存

试剂盒 1 在-20℃±5℃保存，长途运输应采用干冰运输条件，或者冰袋结合干冰的形式；试剂盒 2 在 2-8℃保存，长途运输应采用冰袋运输形式。试剂盒 3 在 10-30℃保存，常温运输。

试剂盒在正确储存条件下有效期为 12 个月。

产品特点

- 预分装建库全套试剂，配套全自动文库制备仪，即取即用
- 自动化一站式反应，全流程高度集成，摆脱了繁琐的手工建库操作
- 实验数据稳定，性能与手工建库一致
- 一次性预分装耗材，封闭式反应，避免样本间污染



（图为 AlNoVar™ UNIPre DNA Library Prep Kit 建库流程）

试剂板预分装组分及对应孔位

试剂盒名称	组分名称	孔位	体积
试剂板	End Prep Buffer	2 号	12 μL
	2×HiFi PCR Master Mix	3 号	25 μL
	Ligation Buffer	4 号	30 μL
	DNA Ligase	5 号	5 μL
	Truncated Adapter for Illumina	6 号	5 μL
	Nuclease-Free Water	7 号	150 μL
	Mineral Oil	9 号	150 μL
	Nuclease-Free Water	10 号	150 μL
	Nuclease-Free Water	12 号	150 μL
	80% Ethanol	13 号	450 μL
	End Prep Enzyme	18 号	3 μL
	Nuclease-Free Water	19 号	1.4mL
	80% Ethanol	24 号	600 μL

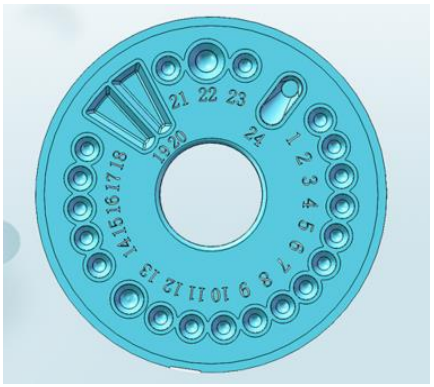


图 样本板及试剂孔

其他材料

(1) 自备试剂

名称	推荐产品	供应商
片段分析	Agilent DNA 1000 Kit	Agilent
	S2 Cartridge (Standard Cartridge)	Bioptic
核酸定量	dsDNA HS Assay Kit for Qubit	翊圣
接头及引物	AlNoVar™ UDI Adapter Kit for Illumina 通用接头试剂盒	铭毅智造

(2) 自备仪器

名称	推荐产品	供应商
全自动基因测序文库制备仪	UNIPre-1	铭毅智造
片段分析仪	Agilent 2100 Bioanalyzer system	Agilent
	Qsep 100	Bioptic
荧光计	Qubit 4.0 Fluorometer	Thermo Fisher
	MGN-FX2	铭毅智造
涡旋振荡器	市面主流产品	市面主流品牌
加样台	MGN-IJ-1952	铭毅智造
微孔板离心机	BE-6100	铭毅智造
打断仪	Covaris 系列 DNA 超声破碎仪	Covaris

(3) 自备耗材

名称	推荐产品	供应商

0.5mL Qubit 管	Qubit® Assay Tubes	Thermo Fisher
10μL 移液器吸头	市面主流产品	市面主流品牌
200μL 移液器吸头	市面主流产品	市面主流品牌
1000μL 移液器吸头	市面主流产品	市面主流品牌
1.5mL 离心管	市面主流产品	市面主流品牌

注意事项

(1) 起始 DNA 样本

- 本试剂盒适用于血液、唾液、组织、FFPE 等样本形式提取的 gDNA，尽可能使用 A260/A280=1.8~2.0 的高质量 Input DNA。建议在 10mM Tris-HCl（pH 8.0 - 8.5）+ 0.1 mM EDTA 中进行 DNA 片段化（高浓度 EDTA 和强缓冲剂的溶液会对体系造成影响，影响试剂性能）。
- gDNA 投入量范围为 100ng-300ng，建议用 Qubit 或其他基于荧光法定量仪器对 Input DNA 定量。“起始（input）”通常是指用于末端修复和加 A 尾反应的 DNA。如果在片段化之前对 DNA 进行定量，用于文库构建的实际起始 DNA 可能比较低。
- FFPE 样本建议在增加 1-3 个循环数，或者增加投入量。

(2) 接头与 PCR 引物

- 本试剂盒提供的 Truncated Adapter for Illumina 为截短型 DNA 接头（浓度为 15μM）。
- PCR 扩增时需加上 P5 和 P7 双端 Index。推荐铭毅智造的 UDI Primer for Illumina（浓度为 10μM），包含 P5 和 P7 双端 Index，采用混合成一管的形式，直接作为扩增 Index Primer Mix 进行 PCR 扩增使用。
- 如果采用其他测序平台或接头结构，请将更换的 Adapter 加到 4 号孔，PCR 引物加到 3 号孔，注意更换软件运行程序。

(3) 试剂使用

- 试剂组分避免反复冻融，使用前请将试剂板置于冰上融化。解冻后充分混匀，短暂离心后置于冰上待用。
- 本试剂盒为一次性封闭预分装试剂，使用后作为潜在污染源处理。

(4) 其它注意事项

- 实验开始前，请清洁操作台，实验后打开紫外灯进行灭菌。
- 试验前请仔细阅读说明书，严格按照说明书操作。

操作流程

1. 试剂准备

1.1. 试剂准备

取出试剂板、PCR 引物，解冻并混匀，短暂离心后置于冰上待用。取出纯化磁珠，混匀后待用。

1.2. 加载试剂

确定需要加入样本和试剂的孔位，使用枪头将试剂板上的 2、3、8、21 号孔铝膜戳破，在试剂板上相应的孔位加入以下试剂，请确保试剂加到孔底部。

孔位	组分	体积
2 号	Fragment DNA	XμL
	Nuclease-Free Water	（45-X）μL
3 号	UDI Primer for Illumina*	5μL
8 号	DNA Clean Beads	55μL

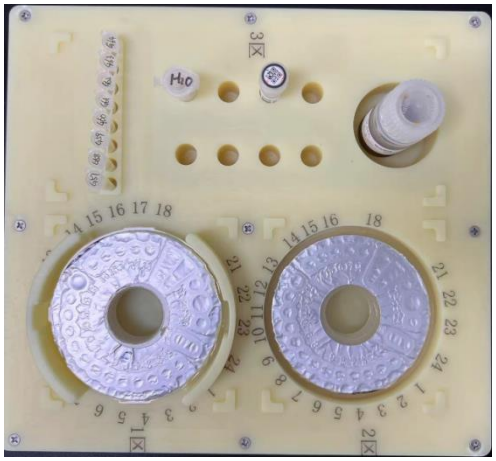
21 号	DNA Clean Beads	80μL

注：“*”UDI Primer for Illumina 需要单独准备（铭毅智造 AlNoVar™ UDI Adapter Kit for Illumina）。

如果采用其他测序平台或接头结构，请将更换的 Adapter 加到 4 号孔，PCR 引物加到 3 号孔，注意更换软件运行程序。

1.3. 组装卡盒

1.3.1. 将试剂底盘放在加样台上，将圆筒底部的窄凸槽对准 11 号孔位，用力下压圆筒，使卡扣固定住试剂板。



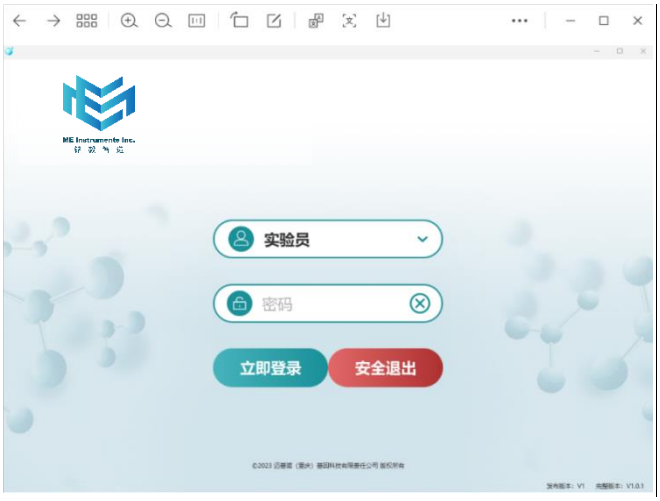
1.3.2. 转动圆筒，使圆筒底部的窄凸槽与试剂板侧面的凸槽对准，检查圆筒盖顶部的凸槽与底部的窄凸槽对齐，以保证准确插取枪头。



2. 软件操作

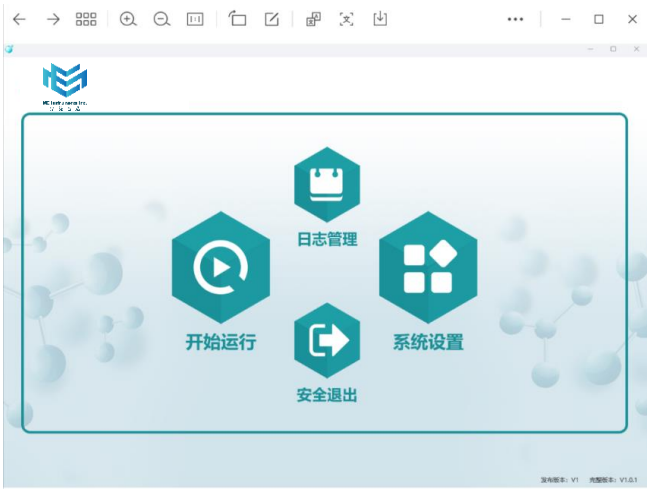
2.1. 进入登录界面

打开 UNIPre 软件，进入登录页面；选择“实验员”；密码框中输入该用户名对应的密码即可登录软件，点击“立刻登录”进入主界面。



2.2. 进入运行界面

2.2.1. 点击“开始运行”按钮；跳转进入程序运行界面。



2.2.2. 运行界面显示所有仪器状态，打开仪器开关，仪器显示“已连接”状态，表示仪器与电脑连接成功。

2.3. 程序选择

2.3.1. 点击“程序选择”，弹出“实验信息”和“程序列表”界面。



2.3.2. “实验信息”界面可以修改相应的信息。

2.3.3. 点击”导入程序“，选择所需导入的程序。

2.3.4. 选中要运行的程序，点击“确定”，程序自动返回开始运行界面。

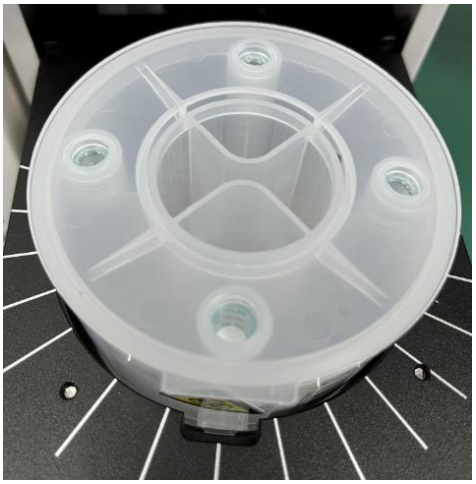


2.4. 运行程序

2.4.1. 在“程序运行”界面，选中运行的仪器编号，点击“出舱”按钮，推出热循环部件。



2.4.2. 将卡盒放入舱内，注意卡盒两处凸起对齐仪器的热循环部件凹槽处。卡盒取放时需尽可能保持水平，向下按压，使其完全固定在凹槽内。



2.4.3. 点击“出舱”按钮，使热循环部件退回舱内。

2.4.4. 核对运行程序，点击“启动”按钮，系统将开始运行所选程序。



2.4.5. 选中运行的仪器，运行界面显示正在运行的步骤和孔位。



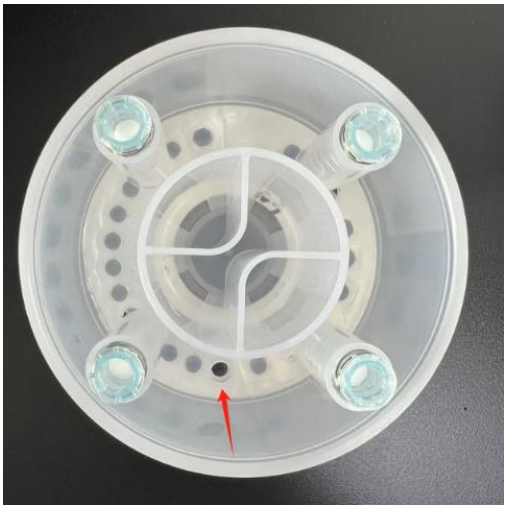
2.5. 回收产物

2.5.1. 程序运行完成后，点击“完成”按钮，各轴复位。



2.5.2. 选中运行的仪器，点击“出舱”按钮将仪器的热循环部件推出，取出卡盒。

2.5.3. 将卡盒顶盖打开，用移液器将 1 号孔的产物转移至到新的 EP 管。



2.5.4. 使用 Qubit 进行定量，记录产物浓度。

3. 实验完成

3.1. 查看运行程序

3.1.1. 在主界面，点击“日志管理”按钮；跳转进入日志管理界面。



3.1.2. 选择查看的仪器编号，日志管理界面显示运行的程序名称、实验人员、运行时间等实验信息。



4. 文库质控

推荐使用 Qubit 进行文库定量质检。

推荐使用 Qsep100 进行文库片段分布质检。

历史版本

版本号	内容描述	日期
V1.0	原版	2024.07.25