

TransNGS® 4×RNA Fragmentation Buffer

使用前请仔细阅读说明书

目录号: KM402

保存: -20°C保存一年

产品说明

TransNGS® 4×RNA Fragmentation Buffer 是 TransNGS® Fast RNA-Seq Library Prep Kit for Illumina (目录号: KP701) 专用的 RNA 片段化试剂, 替代其中的 1×RNA Fragmentation Buffer, 可用于 RNA 的片段化和一链 cDNA 的合成步骤。

适用范围

- 溶于 RNase-free Water 的 total RNA
- 经 mRNA 纯化或 rRNA 去除, 并溶于 RNase-free Water 的 RNA 产物

试剂组成

Component	KM402-01(12 rxns)	KM402-02(96 rxns)
4 × RNA Fragmentation Buffer	50 µl	400 µl

操作步骤

请根据 Input RNA 是否需要片段化处理, 选择不同的操作方案:

1. Input RNA 需要片段化处理的实验方案

1.1 RNA 片段化

(1) 将 4 × RNA Fragmentation Buffer 冰上解冻后颠倒混匀, 依次加入以下体系:

Component	Volume
Input RNA	Variable
4 × RNA Fragmentation Buffer	4 µl
RNase-free Water	To 17 µl

(2) 移液器吹吸混匀数次, 点甩离心收集管壁上的液体。

(3) 将反应管置于 PCR 仪中, 进行以下 RNA 片段化程序 (热盖温度 105°C), 最终得到 200 -350 bp 的插入片段。

Temperature	Time
94°C	7 min
4°C	Hold

* 如果想获得其他长度的插入片段, 片段化条件如下表:

插入片段长度	温度	时间
150-250 bp	94°C	8 - 10 min
250-450 bp	94°C	3 - 7 min

1.2 cDNA 第一链合成

(1) 将上一步反应结束的 PCR 管置于冰上, 加入以下体系:

Component	Volume
Fragmented RNA	17 µl
Library First-Strand Buffer III	6 µl
Library First-Strand Enzyme Mix II	2 µl
Total volume	25 µl



(2) 移液器吹吸混匀数次，点甩离心收集管壁上的液体。

(3) 将反应管置于 PCR 仪中，进行以下第一链合成程序：

Temperature	Time
25°C	10 min
42°C	15 min
70°C	15 min
4°C	Hold

2. Input RNA 不需要片段化处理的实验方案

2.1 cDNA 第一链合成

(1) 将 4 × RNA Fragmentation Buffer 冰上解冻后颠倒混匀，依次加入以下体系：

Component	Volume
Input RNA	Variable
4 × RNA Fragmentation Buffer	4 μl
Library First-Strand Buffer III	6 μl
Library First-Strand Enzyme Mix II	2 μl
RNase-free Water	To 25 μl

(2) 移液器吹吸混匀数次，点甩离心收集管壁上的液体。

(3) 将反应管置于 PCR 仪中，进行以下第一链合成程序：

Temperature	Time
25°C	10 min
42°C	15 min
70°C	15 min
4°C	Hold

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202409

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

