

## 4 × Frag/Prime Buffer

### 产品简介

本产品衔接 Hiief NGS® Dual-mode RNA Library Prep Kit (Yeasen: Cat#12309ES), 替代其中的 Frag/Prime buffer 使用, 用于 RNA 的片段化和一链 cDNA 合成步骤。Input RNA 可以是 total RNA, 也可以是 mRNA 纯化的产物、rRNA 去除的产物等。由于在 Cat#12309ES 中直接使用 1×Frag/Prime Buffer 去洗脱 mRNA 纯化或 rRNA 去除操作中所得的 RNA, 没有额外的体积用于添加含 RNA 的溶液。若 Input RNA 已经溶解于 Nuclease free ddH<sub>2</sub>O 中, 可选择本产品进行 RNA 片段化或一链 cDNA 合成反应。

### 产品信息

货号	13487ES08 / 13487ES24 / 13487ES96/13487ES98
规格	8 T / 24 T / 96 T / 1000 T

### 组分信息

组分编号	组分名称	13487ES08	13487ES24	13487ES96	13487ES98
13487-A	4 × Frag/Prime Buffer	32 μL	96 μL	384 μL	4 mL

### 储存条件

-25~-15°C保存, 有效期 1 年。

### 使用说明

当 Input RNA 不需要片段化处理时, 请选择方案 A; 当 Input RNA 需要片段化处理时, 请选择方案 B。

A1. 若 Input RNA 无需片段化处理, 可结合 Cat#12309ES 试剂, 按照表 1 直接配制第一链 cDNA 合成反应体系。

表 1 直接进行第一链 cDNA 合成反应体系

名称	体积 (μL)
Input RNA	13
4×Frag/Prime Buffer	4
Strand Specificity Reagent	6
1st Strand Enzyme Mix	2
Total	25

A2. 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬离将反应液离心至管底, 按照表 2 反应程序于 PCR 仪中进行一链合成反应。一链合成产物可衔接 Cat#12309ES 进行后续反应。

表 2 第一链 cDNA 合成反应程序

温度	时间
热盖 105°C	On
25 °C	10 min
42°C	15 min
70°C	15 min
4°C	Hold

B1. 若 Input RNA 需要进行片段化处理，可按照 3 配制片段化体系进行 RNA 片段化。

表 3 片段化反应体系

名称	体积 (μL)
Input RNA	13
4×Frag/Prime Buffer	4
Total	17

B2. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底，根据 Input RNA 的完整度和实验目的，参考 Cat#12309ES 说明书设置合适的片段化条件。

B3. 片段化产物进行一链 cDNA 合成，按照表 4 配制一链 cDNA 合成反应体系。

表 4 第一链 cDNA 合成反应体系

名称	体积 (μL)
Fragmented RNA	17
Strand Specificity Reagent	6
1 <sup>st</sup> Strand Enzyme Mix	2
Total	25

B4. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底，按照表 2 反应程序于 PCR 仪中进行一链合成反应。一链合成产物可衔接 Cat#12309ES 进行后续反应。

## 注意事项

1. 本产品仅作科研用途。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
3. 请使用无 RNase 污染的耗材，并对实验区域定期进行清理，推荐使用 Thermo Fisher 公司的 RNAZap™ 高效核酸去除喷雾去除 RNA 酶污染。
4. Input RNA 请溶于 Nuclease free ddH<sub>2</sub>O，避免 Mg<sup>2+</sup> 的存在干扰片段化效果；Input RNA 最大投入体积为 13 μL，在进行洗脱时请注意洗脱体积的选择。