

Hieff NGS[®] ds-cDNA Synthesis Kit

全长 cDNA 合成试剂盒

Cat No.13488

使用说明书

Product Manual



目 录

产品信息	1
产品描述	1
产品组分	1
运输与保存方法	1
注意事项	1
建库流程图	1
使用方法	1

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS® ds-cDNA Synthesis Kit	13488ES08	8 T
全长 cDNA 合成试剂盒	13488ES24	24 T
	13488ES96	96 T

产品描述

Hieff NGS® ds-cDNA Synthesis Kit 是用于 Illumina®/MGI® 测序平台的 RNA 测序文库的 cDNA 合成试剂盒, 包含高效 RNA 反转录试剂, 常规 ds-cDNA 合成试剂。可衔接 Hieff NGS® OnePot cDNA&gDNA Library Prep Kit (Yeasen Cat#13502) 进行后续建库。本试剂盒提供的所有试剂都经过严格的质量控制和功能验证, 最大程度上保证了文库构建的稳定性和重复性。

产品组分

组分编号和名称	13488ES08	13488ES24	13488ES96
13488-A ○ Random Primer	8 µL	24 µL	96 µL
13488-B ● 1st Reaction Buffer	64 µL	192 µL	768 µL
13488-C ● 1st Strand Enzyme Mix	16 µL	48 µL	192 µL
13488-D ● 2nd Reaction Buffer	56 µL	168 µL	672 µL
13488-E ● 2nd Strand Enzyme Mix	24 µL	72 µL	288 µL

运输与保存方法

干冰运输。-20°C 保存。有效期 1 年。

注意事项

关于操作

1. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 请于使用前将试剂盒各组分置于室温解冻。解冻后上下颠倒数次充分混匀, 短暂离心后置于冰上待用。
3. 推荐在带热盖的 PCR 仪中进行各步骤反应, 使用前应预热 PCR 仪至反应温度附近。
4. 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 ThermoFisher 公司的 RNAZap™ 高效核酸去除喷雾去除 RNA 酶污染。
5. PCR 产物因操作不当极易产生气溶胶污染, 进而影响实验结果准确性。推荐将 PCR 反应体系配制区和 PCR 产物纯化检测区进行强制性的物理隔离; 配备文库构建专用移液器等设备; 定时对各实验区域进行清洁 (推荐使用 ThermoFisher 公司的 DNAZap™ 高效核酸去除喷雾), 以保证实验环境的洁净度。
6. 本产品仅作科研用途!

自备材料 (Other Material)

1. DNA 纯化磁珠: Hieff NGS® DNA Selection Beads (Yeasen Cat#12601) 或 AMPure® XP Beads (A63880) 或其他等效产品。
1. 文库质检: Agilent 2100 Bioanalyzer DNA 1000 Chip/ High Sensitivity Chip 或其他等效产品; 文库定量试剂。
2. 其他材料: 无水乙醇、无菌超纯水、低吸附枪头、PCR 管、磁力架、PCR 仪等

使用方法

Step 1 RNA 变性

1. 将 Random Primer 室温解冻后, 颠倒混匀, 置于冰上备用。按照下表配置反应液:

表 1 RNA 预变性反应体系

名称	体积 (μL)
Random Primer	1
RNA	14
Total	15

2. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。
3. 将上述PCR管置于PCR仪中，按照表2所示设置反应程序，进行RNA的预变性。

表 2 RNA 预变性反应程序

温度	时间
热盖 75°C	On
70°C	5 min
立即置于冰上	3 min

Step 2 第一链 cDNA 的合成 (1st Strand Synthesis)

1. 将第一链合成试剂从-20°C取出，室温解冻，颠倒混匀后瞬离。按表3所示，配制第一链cDNA合成的反应液。

表 3 第一链 cDNA 合成反应体系

名称	体积 (μL)
变性的 RNA	15
1st Reaction Buffer	8
1st Srtand Enzyme Mix	2
Total	25

2. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。
3. 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，按照表 4 所示设置反应程序，进行第一链 cDNA 的合成。反应结束后立即进行第二链 cDNA 的合成。

表 4 第一链 cDNA 合成反应程序

温度	时间
热盖 105°C	On
25°C	5 min
42°C	30 min
85°C	5 min
4°C	Hold

Step 3 第二链 cDNA 的合成 (2nd Strand Synthesis) :

1. 将第二链合成试剂从-20 °C 取出，解冻后颠倒混匀；按照表 5 所示，配制第二链 cDNA 合成反应液。

表 5 第二链 cDNA 合成反应体系

名称	体积 (μL)
1st Strand cDNA	25
2nd Reaction Buffer	7
2nd Strand Enzyme Mix	3
Total	35

2. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。
3. 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，按照表 6 所示设置反应程序，进行第二链 cDNA 的合成。

表 6 第二链 cDNA 合成反应程序

温度	时间
----	----

热盖	Off
16°C	5 min
4°C	Hold

Step 4

第二链 cDNA 产物可衔接 Hieff NGS[®] OnePot cDNA&gDNA Library Prep Kit (Yeasen Cat#13502) 进行后续建库。

Good science

Good products

翌圣生物科技（上海）股份有限公司

服务电话:400-6111-883

咨询邮箱:marketing@yeasen.com

网 址:www.yeasen.com

地 址:上海市浦东新区国际医学园区天雄路166号1号楼402室

