

# RNA文库制备推荐流程 (Illumina平台)

## Step1

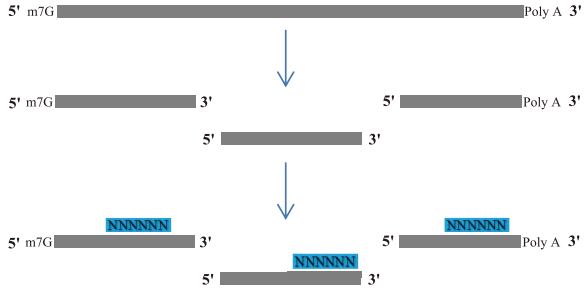
**RNA富集**  
 • 以mRNA或以去除rRNA的总RNA为起始样本进行文库构建。

## Step2

**RNA片段化**  
 • 用超声破碎、化学处理或热处理方式将mRNA片段化。

## Step3

**第一链cDNA合成**  
 • 使用随机引物对片段化的mRNA进行反转录。

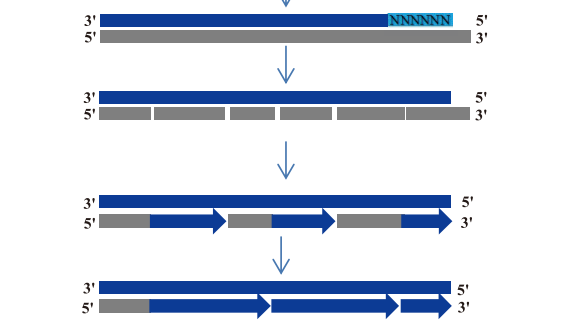


**第一链cDNA合成供选原料**

- EnzScript M-MLV (RNase H-) (NG212-01)
- RNA酶抑制剂 (NG209-01/02)

## Step4

**第二链cDNA合成**  
 • 使用RNase H产生缺口, 从切口处以RNA为引物进行延伸并连接生成cDNA第二链。



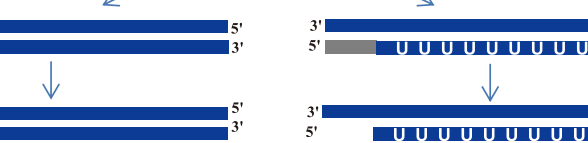
**第二链cDNA合成供选原料**

- RNA酶H (NG207-01/02)
- DNA聚合酶I (NG204-01/02)
- T4 DNA连接酶 (NG201-01/02)

Undirectional sequencing      Directional sequencing

## Step5

**末端修复**  
 • 对双链cDNA进行末端修复, 使DNA双链片段形成平末端。  
 • 末端修复的同时对DNA片段进行磷酸化。



**末端修复供选原料**

- T4 DNA聚合酶 (NG205-01/02)
- Klenow片段 (NG203-01/02)
- T4多聚核苷酸激酶 (NG206-01/02)

## Step6

**添加A尾**  
 • 对DNA片段3'-末端添加A尾。

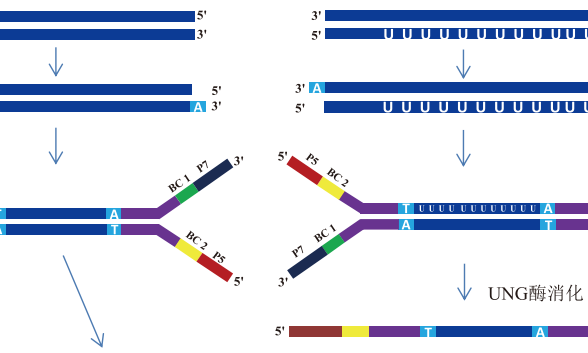


**添加A尾供选原料**

- Klenow片段 (3'-5' exo-) (NG202-01/02)
- T4多聚核苷酸激酶 (NG206-01/02)

## Step7

**接头连接**  
 • 使用DNA连接酶在DNA片段两端连接含有1-2个Barcode序列的接头。  
 • 接头中已经含有测序所需的P5及P7序列, 可选择将连接产物纯化后直接用于NGS测序, 或进行PCR扩增后再进行测序。

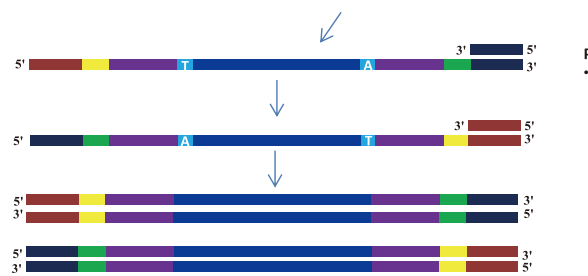


**接头连接供选原料**

- T4 DNA连接酶 (NG201-01/02)

## Step8

**PCR富集**  
 • 由于接头上含有P5及P7序列, 利用P5及P7引物可直接对文库进行PCR富集。



**PCR富集试剂**

- TIANSeq NGS Library Amplification Module (NG304-01/02)