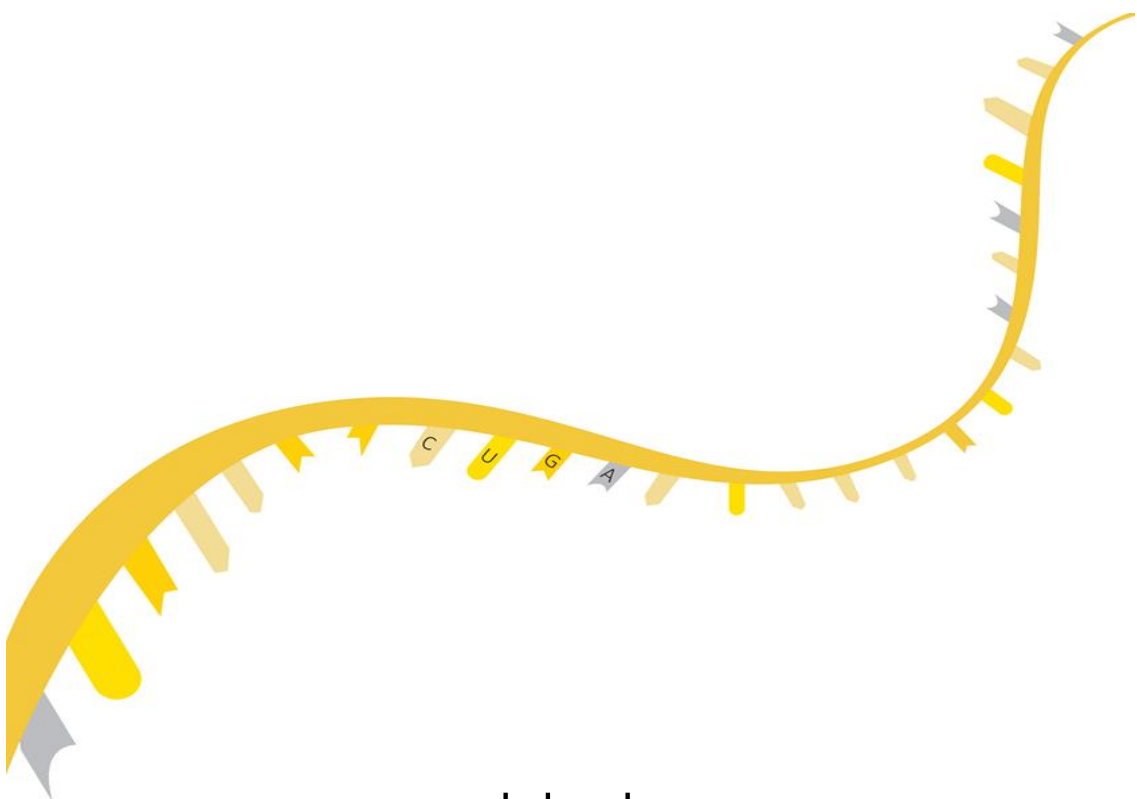




Small RNA Lib Prep Kit for Illumina V2®

RK20307



www.abclonal.com.cn

Version: N16D07v2.1

目录

1.	产品概述	1
2.	产品组分	2
3.	运输及保存条件	3
4.	自备材料	3
5.	注意事项	4
6.	实验流程	5
7.	实验步骤	5
8.	常见问题及解答	13
9.	附录	17

1. 产品概述

- 适用于 Illumina 测序平台；
- 本试剂盒适用的模板为动植物、真菌等真核生物的 total RNA，以及分离纯化的 small RNA； total RNA 样本起始量建议在 100 ng-1 μ g；
- 通常应用分析的 Small RNA 种类包含 miRNA，piRNA，tsRNA 等，不同种类 small RNA 的长度可能会有所差异，所以在文库割胶纯化的时候针对研究对象酌情分析；
- Small RNA 建库过程：通过在 small RNA 的 3' 和 5' 两端各自连接通用接头，再经历反转录，PCR，磁珠纯化以及 PAGE 割胶回收等一系列步骤，最终得到用于 Illumina 平台测序的目的文库，正常 miRNA 文库片段约为 150 bp 左右，130 bp 左右为接头二聚体；
- 试剂盒中接头连接使用的均为截短型接头，需要搭配使用 Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina (RK20357/RK20358/RK20359/RK20360)，通过 PCR 过程补充文库的完整结构并富集文库。
- 试剂盒包括建库所需的所有酶和缓冲液，每种试剂都经过严格的质控以及建库测序的验证，确保试剂盒建库的稳定性和重复性。

2. 产品组分

Module Name	Tube color & Name	24 RXN	96 RXN
3' Adapter Ligation	 3' Adapter	24 µL	96 µL
	 2X 3' Adapter Ligation Buffer	240 µL	960 µL
	 3' Adapter Ligation Enzymes II	48 µL	192 µL
5' Adapter Ligation	 5' Adapter	24 µL	96 µL
	 5' Adapter Ligation Buffer	24 µL	96 µL
	 5' Adapter Ligation Enzymes	60 µL	240 µL
First Strand cDNA Synthesis	 RT Primer	24 µL	96 µL
	 5X First Strand Synthesis Buffer	192 µL	768 µL
	 First Strand Synthesis Enzymes	48 µL	192 µL
Library Enrichment	 2X LA PCR Mix	1.2 mL	4.8 mL
	 Nuclease-free Water	1 mL	1 mL X 2
PAGE Gel Elution	 Quick Load pBR322-Mspl Digest DNA Marker	240 µL	960 µL
	 6X Loading Buffer	120 µL	480 µL
	 DNA PAGE Gel Elution Buffer	6 mL	24 mL
	 Linear Acrylamide	24 µL	96 µL

● 代表了管盖子的颜色。

使用 ABclonal Small RNA Lib Prep Kit for Illumina®试剂盒进行小 RNA 文库构建, 可选择搭配如下试剂盒, 完成文库的富集和每个样本文库 index 标记:

试剂盒名称	货号
Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina MiniSet (8 indices)*	RK20357
Small RNA Adapter Module 96Index for Illumina MidiSet (24 indices)	RK20358
Small RNA Adapter Module 96Index for Illumina Set_A (48 indices)	RK20359
Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina Set_B (48 indices)	RK20360

*, 注: Small RNA Index Primer 包含 1-96 共 96 个 index primer, 每个 index primer 使用按照 2.5 μ L/样本进行文库 PCR 反应。具体 index 序列信息见附录。

3. 运输及保存条件

运输条件:

试剂盒长途运输尽量采用干冰, 或者干冰结合冰袋方式, 在-40 ~ -20℃温度条件下进行运输。请不要尝试采用冰袋进行长途运输。

保存条件

Small RNA Lib Prep Kit Package:

- 5' Adapter: -80℃保存
- DNA PAGE Gel Elution Buffer: 室温保存
- 其余组分: -20℃保存
- Small RNA Adapter Module Package: -20℃保存

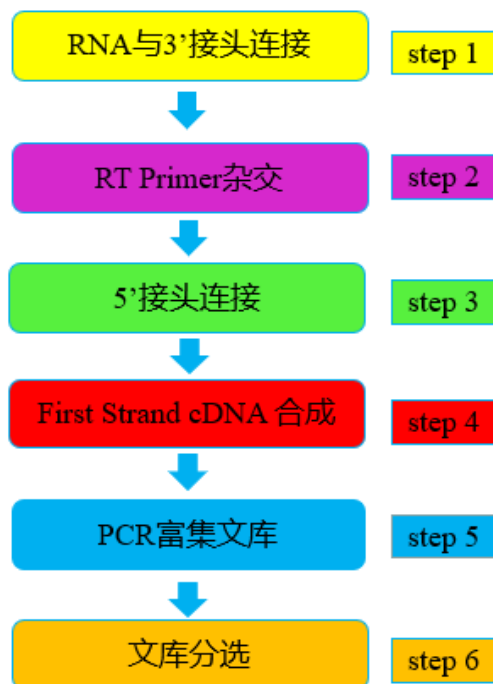
4. 自备材料

- Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter, Inc. #A63881)
- 6%或 10% TBE PAGE 胶（自配）及其配套电泳装置
- 3M 乙酸钠, pH5.5
- 80% 乙醇（新鲜）
- 磁力架
- PCR 仪
- 恒温金属浴或恒温水浴锅等

5. 注意事项

- 1) 针对 total RNA 样本, 最好使用完整性比较好的样本 (RIN 值>7), small RNA 目的文库的分析筛选只针对片段较小的样本, 如果 total RNA 降解严重, 本试剂盒不能保证分析 small RNA 的种类;
- 2) 若分析样本为血浆、血清或其余外泌体时, 如果 small RNA 含量比较少, 在 3' Adapter 连接时可以采用 16°C过夜连接方法增加连接效率, 避免因没有捕获到 small RNA 而导致建库失败;
- 3) 试剂盒组分对温度敏感, 应严格按照保存条件进行存储; 在实验过程中取出-20°C或-80°C保存试剂时应置于冰上;
- 4) 移液器吸取试剂前应将该试剂瞬时离心, 使溶液集中至试剂管底部;

6. 实验流程



7. 实验步骤

1. 3' 接头连接

1.1 RNA 样本准备

将 RNA 样本取出冰上融解，取 total RNA（100 ng-1 μ g）或其他 RNA 样本加 Nuclease-free Water 补至 7 μ L，冰上备用。

1.2 模板与接头变性

将 3' Adapter 和 2X 3' Adapter Ligation Buffer 置于冰上融解，混匀并瞬时离心，以下所有操作均在冰上进行。按照下表加入下列各组分

组分	体积
RNA 溶液（步骤 1.1）	7 μ L
 3' Adapter*	1 μ L
Total	8 μ L

*,注：若 total RNA 模板起始量 ≤ 100 ng，用 Nuclease-free Water 将 3' Adapter 进行 1:1 稀释后再使用。

将上述反应体系置于 PCR 仪中进行 RNA 变性（热盖温度 $\geq 75^{\circ}\text{C}$ ）。

温度	时间
70 $^{\circ}\text{C}$	2 min

反应结束后立即取出置于冰上；

1.3 按照下表依次加入以下各组分

组分	体积
3' Adapter & RNA（步骤 1.3）	8 μ L
 2X 3' Adapter Ligation Buffer	10 μ L
 3' Adapter Ligation Enzymes II	2 μ L
Total	20 μ L

1.4 将配好的体系吹打混匀，瞬时离心，置于 PCR 仪中进行连接（热盖 Off）

温度	时间
30 $^{\circ}\text{C}$	1 hr*
4 $^{\circ}\text{C}$	Hold

*,注：对于 small RNA 含量较少的样本，如血浆 RNA 样本等，推荐 16 $^{\circ}\text{C}$ 过夜连接，以增加 3' Adapter 的连接效率；

2. RT Primer 杂交

2.1 将 RT Primer 取出，冰上进行解冻，混匀后，瞬时离心，放置冰上备用，以下所有操作均在冰上进行。按照下表加入下列各组分

组分	体积
3' Adapter连接产物（步骤1.4）	20 μ L
 RT Primer*	1 μ L
 Nuclease-free Water	4.5 μ L
Total	25.5 μ L

*,注: 若 total RNA 模板投入量 $\leq$ 100 ng, 则需先将 RT Primer 使用 Nuclease-free Water 按 1:1 的比例稀释后使用。

2.2 将配好的体系吹打混匀，瞬时离心，置于 PCR 仪中（热盖温度 $>75^{\circ}\text{C}$ ）

温度	时间
75 $^{\circ}\text{C}$	5 min
37 $^{\circ}\text{C}$	15 min
25 $^{\circ}\text{C}$	15 min
4 $^{\circ}\text{C}$	Hold

3. 5' 接头连接

将 5' Adapter, 5' Adapter Ligation Buffer 置于冰上融解，混匀并瞬时离心，以下所有操作均在冰上进行。

3.1 按照反应个数(N)取(N+1) μ L 的 5'Adapter 置于 RNase-free 的 PCR 管中，PCR 仪中进行变性处理（热盖温度 $>75^{\circ}\text{C}$ ）

温度	时间
70 $^{\circ}\text{C}$	2 min*

**,注：反应结束后立即取出置于冰上；*

3.2 按照下表配制反应体系

组分	体积
RT Primer杂交产物（步骤2.2产物）	25.5 μL
 5' Adapter（步骤3.1） <i>*</i>	1 μL
 5' Adapter Ligation Buffer	1 μL
 5' Adapter Ligation Enzymes	2.5 μL
Total	30 μL

**,注：若 total RNA 模板投入量 ≤ 100 ng，则需先将 5' Adapter 用 Nuclease-free Water 按 1:1 的比例稀释。*

3.3 将配好的体系吹打混匀，瞬时离心，置于 PCR 仪中进行连接（热盖 Off）

温度	时间
25°C	1 hr
4°C	Hold

4. First Strand cDNA 合成

4.1 将 5X First Strand Synthesis Buffer 置于冰上融解，混匀并瞬时离心。按照下表配制反应体系

组分	体积
5' Adapter连接产物（步骤3.3）	30 μL
 5X First Strand Synthesis Buffer	8 μL
 First Strand Synthesis Enzyme Mix	2 μL
Total	40 μL

4.2 将配好的体系吹打混匀，瞬时离心，置于 PCR 仪中进行反应（热盖温度 $\geq 75^{\circ}\text{C}$ ）

温度	时间
50°C	1 hr
4°C	Hold

Safe Stopping Point: 若进行到该步骤不准备立即进行 PCR 扩增, 在 50°C 1 hr 反应结束后, 70°C处理样本 15 min, 则样本可在-20°C条件下保存 24 hr。

5. PCR 富集

5.1 将 sRNA Universal Primer, sRNA Index Primer 和 2X LA PCR Mix 置于冰上融解, 混匀并瞬时离心。按照下表配制反应体系

组分	体积
First Strand cDNA (步骤4.2)	40 µL
 2X LA PCR Mix	50 µL
 sRNA Universal Primer	2.5 µL
 PCR Index XX	2.5 µL
 Nuclease-free Water	5 µL
Total	100 µL

5.2 将配好的体系分别吹打混匀, 瞬时离心, 置于 PCR 仪中(热盖温度 105°C), 运行如下程序

温度	时间	循环数
94°C	2 min	1
94°C	15 s	15-18*
62°C	30 s	
70°C	15 s	
70°C	5 min	1
4°C	Hold	

*注:当 RNA 初始投入量为 1 μg 时建议循环数为 15 个,当 RNA 初始投入量为 100 ng 时建议循环数为 16-18 个。

5.3 Agilent 2100 检测文库: 取 1 μL PCR 产物用 Agilent D1000 DNA Chip 分析, ~150 bp 处峰为富集的 miRNA 文库或 piRNA 文库, 典型文库产物检测结果如图 1 所示。

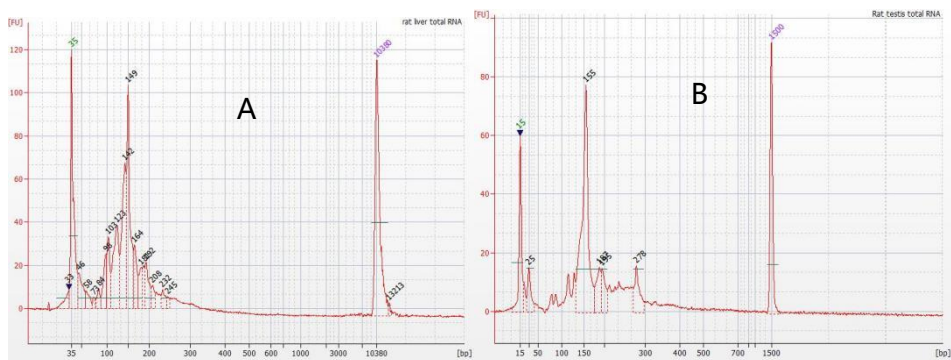


图 1. Small RNA 文库产物检测。图 A 是大鼠肝脏组织 total RNA 构建的小 RNA 文库, 1 μg 大鼠肝脏组织 total RNA input, PCR 15 cycles; 图 B 是大鼠睾丸组织 total RNA 构建的小 RNA 文库, 1 μg 大鼠睾丸组织 total RNA input, PCR 15 cycles。

6. PCR 产物纯化

6.1 提前 30 min 将 Agencourt AMPure XP beads 从 2-8°C 取出, 静置平衡至室温, 使用前漩涡或者震荡混匀;

6.2 将所有文库转移至 1.5 mL 离心管中, 每个样本加入 180 μL 磁珠 (1.8X), 吹打混匀, 室温静置 5 min, 转移至磁力架上 5 min, 直至溶液澄清, 小心弃去上清;

6.3 使离心管保持在磁力架上, 加入 500 μL 80%乙醇, 静置 30 s, 小心移除上清;

6.4 重复 6.3 步骤一次;

6.5 保持离心管保持在磁力架上, 开盖室温干燥~5 min;

6.6 将离心管从磁力架上取出，加入 26 μL Nuclease-free Water，吹打混匀，室温静置 2min 后置于磁力架上，待溶液澄清后吸取 25 μL 上清至新的 PCR 管中。

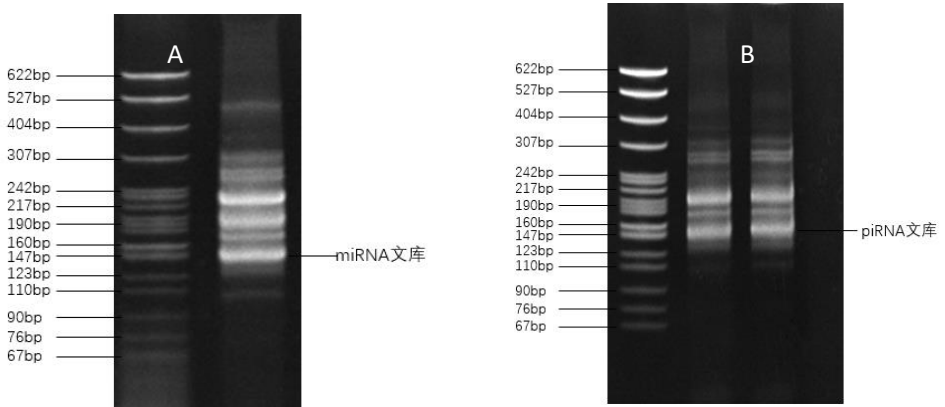


图 2. Small RNA 文库纯化产物检测。图 A 是大鼠肝脏组织 total RNA 构建的小 RNA 文库，10% PAGE 胶分析图。1 μg 大鼠肝脏组织 total RNA input, PCR 15 cycles, 1.8X beads clean up, 25 μL Water 洗脱。图 B 是大鼠睾丸组织 total RNA 构建的小 RNA 文库，10% PAGE 胶分析图。1 μg 大鼠睾丸组织 total RNA input, PCR 15 cycles, 1.8X beads clean up, 25 μL Water 洗脱。

7. 文库分选

7.1 将 10% 非变性 PAGE 胶状装置于电泳槽中，向电泳槽中加入适量的 0.5X TBE 电泳缓冲液；

7.2 向纯化后的 25 μL PCR 产物中加入 5 μL 6X Loading Buffer，吹打混匀，瞬时离心；

7.3 取 10 μL Quick Load pBR322-MspI Digest DNA Marker 加入 PAGE 胶孔中，然后将样品依次缓慢加入胶孔中；

7.4 上样完成后，100 V 电压（10 V/1 cm）电泳约 85 min，待 loading 指示剂跑到距胶板底部~1 cm 时可停止电泳；

7.5 将 PAGE 胶从电泳装置中取出，用 Safe nucleic acid dye (Safe Red) (RM19009) 染料染色液染色 10 min，在凝胶成像仪中进行观察；

7.6 用刀片将目的文库所在位置条带割下，放置于准备的好的 1.5 mL EP 管中，可用枪头将胶条碾碎，加入 200 μ L DNA PAGE Gel Elution Buffer，37°C 孵育 3-4 hr；

7.7 瞬时离心，将上清转移到新的 EP 管中，用 50 μ L DNA PAGE Gel Elution Buffer 再次冲洗胶条，吸取全部上清转移至同一 EP 管中；

7.8 在新的 EP 管中加入 3 倍上清体积的无水乙醇，1/10 上清体积的 3 M 醋酸钠 (pH5.5) 和 1 μ L Linear Acrylamide，旋涡震荡；

7.9 将 EP 管放置于-80°C条件下，静置至少 30 min；

7.10 取出 EP 管，4°C 12000 rpm 离心 10 min，小心弃去上清；

7.11 加入 500 μ L 80% 乙醇，轻微震荡，4°C 12000 rpm 离心 5 min，小心弃去上清；

7.12 重复 7.11 步骤一次；

7.13 室温开盖干燥 10 min；

7.14 待酒精完全挥发，加入 20 μ L Nuclease-free Water 溶解沉淀；

7.15 2100 检测分选纯化的文库:取 1 μ L 纯化产物用 Agilent D1000 DNA Chip 分析，良好的文库应如图所示：

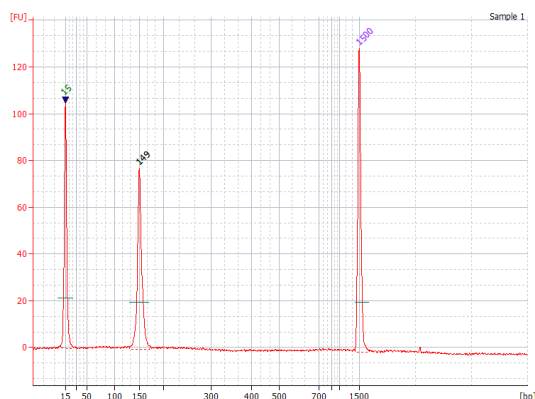


图 3. 大鼠肝脏组织小 RNA 文库割胶回收 2100 分析图。1 μ g total RNA input, PCR 15 cycles, 1.8X beads clean up, 10% nature PAGE 割胶回收，取 1 μ L 割

8. 常见问题及解答

1. 除了用 Trizol 裂解法抽提 total RNA，是否还能用其他方法提取 total RNA？

答：本试剂盒对 total RNA 的抽提没有特殊的要求，但是需要用能够抽提出 small RNA 的试剂盒进行抽提，在抽提的过程中，RNA 沉淀时间尽可能长一些，以便可以富集更多的 small RNA；

2. RT Primer 能否在 cDNA 合成的时候添加？

答：不能，在 3' Adapter 连接完成后加入 RT Primer 进行杂交是为了与多余的 3' Adapter 形成双链结构，双链底物在 T4 RNA ligase 1 作用下不能被连接至 5' Adapter 上，从而保证 5' Adapter 连接的特异性，避免形成接头二聚体；此外 RT Primer 与 3' Adapter 连接上的 RNA 底物方向互补可作为逆转录的引物，所以 cDNA 合成的时候不能再添加 RT Primer；

3. 在用 PAGE gel 进行分选时，需要切哪个条带？

答：在进行 PAGE 割胶回收时，在 147 bp 左右割取 miRNA 目的文库，153 bp 左右割取 piRNA 目的文库；或者进行 2100 分析看目的条带对应位置与 PAGE 胶对应位置进行目的条带的割取，切莫割取 130 bp 左右的条带（接头二聚体）。如果文库浓度较低，使用 10% PAGE 胶回收，可增强文库的分辨率，避免割到接头二聚体。

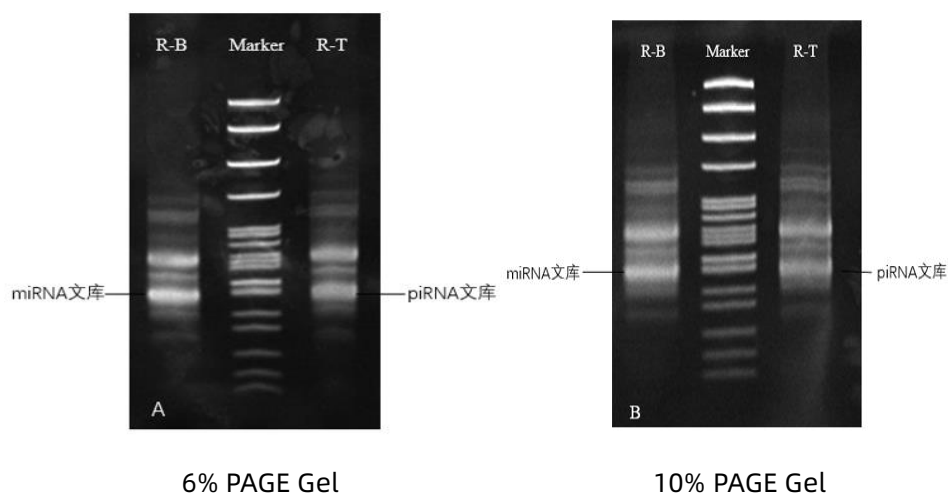


图 4. small RNA 文库的切胶回收。图 A 是 6% PAGE 胶分析的文库图。 R-B: 大鼠脑组织样本 small RNA 文库； R-T:大鼠睾丸组织 small RNA 文库；图 B 是 10% PAGE 胶分析的文库图。R-B: 大鼠脑组织样本 small RNA 文库； R-T: 大鼠睾丸组织 small RNA 文库。

注：10%浓度相对于 6%浓度 PAGE 胶分辨率更高，条带更集中，更容易进行割胶分析。

4. 自备组分配制

4.1 5X TBE电泳缓冲液配方（1 L）

试剂名称	用量
Tris-base	54 g
硼酸	27.5 g
乙二胺四乙酸二钠（EDTA-2Na）	3.72 g

将上述试剂加入 1 L 烧杯中，加入 800 mL 去离子水，充分搅拌均匀，用 50% HCl 调 pH 至 8.3，定容至 1 L，最后使用 0.22 μ m 滤纸过滤。

4.2 10% PAGE胶配制方法（40 mL）

Small RNA Lib Prep Kit for Illumina®V2

试剂名称	用量
甲叉双丙烯酰胺（30%）	13.3 mL
5X TBE	8 mL
ddH ₂ O	18.4 mL
过硫酸铵（AP，10%）	400 μ L
四甲基乙二胺（TEMED）	20 μ L

10% AP与TEMED依次最后加入，加入后迅速混匀并立即灌入提前预备好的胶板中，插入齿梳，30分钟形成凝胶后即可使用；

4.3 6% PAGE胶配制方法（40 mL）

试剂名称	用量
甲叉双丙烯酰胺（30%）	8 mL
5X TBE	8 mL
ddH ₂ O	24 mL
过硫酸铵（AP，10%）	400 μ L
四甲基乙二胺（TEMED）	20 μ L

10% AP与TEMED依次最后加入，加入后迅速混匀并立即灌入提前预备好的胶板中，插入齿梳，30分钟形成凝胶后即可使用；

4.4 3M 醋酸钠（pH5.5）配制方法（100 mL）

试剂名称	用量
无水醋酸钠	24.6 g
ddH ₂ O	80 mL

完全溶解后，用冰醋酸调节pH至5.5；

4.5 部分自备基础试剂购买信息：

试剂名称	品牌	货号
Tris-base	Vetec	V900483
硼酸	国药	10004818
乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-2Na)	国药	10009717
甲叉双丙烯酰胺 (30%)	生工	B546017-0500
过硫酸铵 (AP, 10%)	国药	10002618
四甲基乙二胺 (TEMED)	北京鑫国昌盛生物有限公司	DH338-1
无水醋酸钠	生工	A500827-0500

9. 附录

Adapter 和 PCR index primer 序列信息

- 3' Adapter

5' -rAppAGATCGGAAGAGCACACGTCT-3'

- 5' Adapter

5' -rGrUrUrCrArGrArGrUrUrCrUrArCrArGrUrCrCrGrArCrGrArUrC-3'

- sRNA Universal Primer

5' -AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACGTTCTCAGAGTTCTACAGTCCGA-3'

- PCR Index XX

5' -

Spc/C*A*A*GCAGAAGACGGCATAACGAGATXXXXXXXXGTGACTGGAGTTCAGACGT
GTGCTCTTCCGA*T*C*T-3'

备注: XXXXXXXXX 为 index 碱基序列

- Index table 1. Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina® MiniSet (8 indices) (RK20357)

sRNA Index Primer Name	Index
PCR Index 1	TTACCGAC
PCR Index 2	AGTGACCT
PCR Index 3	TCGGATTC
PCR Index 4	CAAGGTAC
PCR Index 5	TCCTCATG
PCR Index 6	GTCAGTCA
PCR Index 7	CGAATACG
PCR Index 8	TCTAGGAG

- **Index table 2. Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina® MidiSet (24 indices) (RK20358)**

sRNA Index Primer Name	Index	sRNA Index Primer Name	Index
PCR Index 1	TTACCGAC	PCR Index 13	TCGTCTGA
PCR Index 2	AGTGACCT	PCR Index 14	AGCCTATC
PCR Index 3	TCGGATTC	PCR Index 15	CTGTACCA
PCR Index 4	CAAGGTAC	PCR Index 16	AGACCTTG
PCR Index 5	TCCTCATG	PCR Index 17	AGGATAGC
PCR Index 6	GTCAGTCA	PCR Index 18	CCTTCCAT
PCR Index 7	CGAATACG	PCR Index 19	GTCCTTGA
PCR Index 8	TCTAGGAG	PCR Index 20	TGCGTAAC
PCR Index 9	CGCAACTA	PCR Index 21	CACAGACT
PCR Index 10	CGTATCTC	PCR Index 22	TTACGTGC
PCR Index 11	GTACACCT	PCR Index 23	CCAAGGTT
PCR Index 12	CGGCATTA	PCR Index 24	CACGCAAT

- **Index table 3. Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina® Set_A (48 indices) (RK20359)**

sRNA Index Primer Name	Index	sRNA Index Primer Name	Index
PCR Index 1	TTACCGAC	PCR Index 25	TTCCAGGT
PCR Index 2	AGTGACCT	PCR Index 26	TCATCTCC
PCR Index 3	TCGGATTC	PCR Index 27	GAGAGTAC
PCR Index 4	CAAGGTAC	PCR Index 28	GTCGTTAC
PCR Index 5	TCCTCATG	PCR Index 29	GGAGGAAT
PCR Index 6	GTCAGTCA	PCR Index 30	AGGAACAC
PCR Index 7	CGAATACG	PCR Index 31	CAGTGCTT
PCR Index 8	TCTAGGAG	PCR Index 32	CTTGCTAG
PCR Index 9	CGCAACTA	PCR Index 33	TGGAAGCA
PCR Index 10	CGTATCTC	PCR Index 34	AGCTAAGC
PCR Index 11	GTACACCT	PCR Index 35	GAACGGTT
PCR Index 12	CGGCATTA	PCR Index 36	GGAATGTC
PCR Index 13	TCGTCTGA	PCR Index 37	TACGGTCT
PCR Index 14	AGCCTATC	PCR Index 38	CCAGTATC
PCR Index 15	CTGTACCA	PCR Index 39	TCTACGCA
PCR Index 16	AGACCTTG	PCR Index 40	GTAACCGA
PCR Index 17	AGGATAGC	PCR Index 41	GACGTCAT
PCR Index 18	CCTTCCAT	PCR Index 42	CTTACAGC
PCR Index 19	GTCCTTGA	PCR Index 43	TCCATTGC
PCR Index 20	TGCGTAAC	PCR Index 44	AGCGAGAT
PCR Index 21	CACAGACT	PCR Index 45	CAATAGCC
PCR Index 22	TTACGTGC	PCR Index 46	AAGACACC
PCR Index 23	CCAAGGTT	PCR Index 47	CCAGTTGA
PCR Index 24	CACGCAAT	PCR Index 48	TGGTGAAG

- **Index table 4. Small RNA Adapter Module 96 Index for Illumina® Set_B
(48 indices) (RK20360)**

sRNA Index Primer Name	Index	sRNA Index Primer Name	Index
PCR Index 49	AAGACCGT	PCR Index 73	TAGGAGCT
PCR Index 50	TTGCGAGA	PCR Index 74	CGAATTGC
PCR Index 51	GCAATTCC	PCR Index 75	GTCCTAAG
PCR Index 52	GAATCCGT	PCR Index 76	CTTAGGAC
PCR Index 53	CCGCTTAA	PCR Index 77	TCCACGTT
PCR Index 54	TACCTGCA	PCR Index 78	CAACACAG
PCR Index 55	GTCGATTG	PCR Index 79	GCCTTAAC
PCR Index 56	TATGGCAC	PCR Index 80	GTAAGGTG
PCR Index 57	CTCGAACA	PCR Index 81	AGCTACCA
PCR Index 58	CAACTCCA	PCR Index 82	CTTCACTG
PCR Index 59	GTCATCGT	PCR Index 83	GGTTGAAC
PCR Index 60	GGACATCA	PCR Index 84	GATAGCCA
PCR Index 61	CAGGTTCA	PCR Index 85	TACTCCAG
PCR Index 62	GAACGAAG	PCR Index 86	GGAAGAGA
PCR Index 63	CTCAGAAG	PCR Index 87	GCGTTAGA
PCR Index 64	CATGAGCA	PCR Index 88	ATCTGACC
PCR Index 65	GACGAACT	PCR Index 89	AACCAGAG
PCR Index 66	AGACGCTA	PCR Index 90	GTACCACA
PCR Index 67	ATAACGCC	PCR Index 91	GGTATAGG
PCR Index 68	GAATCACC	PCR Index 92	CGAGAGAA
PCR Index 69	GGCAAGTT	PCR Index 93	CAGCATAC
PCR Index 70	GATCTTGC	PCR Index 94	CTCGACTT
PCR Index 71	CAATGCGA	PCR Index 95	CTTCGGTT
PCR Index 72	GGTGTACA	PCR Index 96	CCACAACA

● Quick Load pBR322-Mspl Digest DNA Marker 条带大小

片段编号	片段大小 (bp)
1	622
2	527
3	404
4	307
5	242
6	238
7	217
8	201
9	190
10	180
11,12	160
13,14	147
15	123
16	110
17	90
18	76
19	67
20,21	34
22,23	26
24	15
25,26	9

中国

www.abclonal.com.cn

中国总部：湖北省武汉市江夏区东湖高新区高科园 3 路精准医疗产业基地项目
一期 5 号楼

上海分子研发中心：上海市闵行区园美路 58 号紫竹新兴产业技术研究院 2 号楼
4 楼

美国研发中心：86 Cummings Park Dr ,Woburn,MA 01801 , United States

电话：400-999-6126

邮箱：cn.market@abclonal.com