

产品概述

AcuGenix™ Universal RNA Library Prep Kit (通用型 RNA 建库试剂盒) 是一款兼容 Illumina 和 MGI 双平台的 mRNA 转录组文库构建试剂盒。本试剂盒兼容 10ng-1μg 不同起始量, 试剂盒采用优化的流程以及反应体系, 将 cDNA 二链合成与 Endprep、dA-tailing 进行合并, 进一步缩减建库时间, 4h 可完成文库制备。试剂盒可以衔接 Poly(A)法富集 mRNA 试剂盒和 rRNA 去除试剂盒构建测序文库。

试剂盒包含片段化试剂, 反转录试剂, 常规和链特异性 ds-cDNA 合成、接头连接以及 PCR 扩增所需试剂。其中二链合成模块配有两种 Buffer, 客户可根据需要进行常规建库或链特异性建库。链特异性二链合成 Buffer 中将 dTTP 替换为 dUTP, 使 cDNA 第二链中掺入 dUTP, 在 PCR 扩增前使用高效 UNG 酶在扩增程序启动过程高效消化含 U 模板, 实现链特异性。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。

试剂组成

产品名称	货号	规格
AcuGenix™ Universal RNA Library Prep Kit	BR3R201-01	8 T
	BR3R201-03	24 T
	BR3R201-06	96 T

组分名称		BR3R201-01 (8T)	BR3R201-03 (24T)	BR3R201-06 (96T)
Fra Buffer		176 μL	528 μL	1056 μL×2
1st Strand Buffer		64 μL	192 μL	768 μL
1st Strand Enzyme Mix		16 μL	48 μL	192 μL
2nd Strand Buffer(dNTP)		200 μL	600 μL	1200 μL×2
2nd Strand Buffer(dUTP)		200 μL	600 μL	1200 μL×2
2nd Enzyme Mix		40 μL	120 μL	480 μL
Ligation Buffer		240 μL	720 μL	1440 μL×2
DNA Ligase		40 μL	120 μL	480 μL
2×HS Amplification Mix		200 μL	600 μL	1200 μL×2

注: 建库过程所需的接头和扩增引物不包含在本试剂盒, illumina 平台推荐额外配置 NGS UDI Adapter for Illumina, Set 1(Cat# BR3N109) 试剂盒。MGI 平台推荐额外配置 NGS UDB Primer for MGI, Set 1(Cat# BR3N107)试剂盒。

保存条件

-20±5°C 保存。

适用范围

1. 本产品仅作科研用途!
2. 本试剂盒适用于完整度良好的动、植物及真菌等真核生物总 RNA、经 Poly(A)法富集的 mRNA、经 rRNA 去除后的 RNA 文库构建。不同样品的总 RNA 中 mRNA 的含量差异较大, 若总 RNA 起始投入量过低, 则不能确保得到足够的 mRNA 用于后续文库构建实验。
3. 本试剂盒可与 AcuGenix™ mRNA Capture Beads (Cat# BR3R101)或其他等效的 mRNA 分离模块或 rRNA 去除模块搭配

使用。

4. 本试剂盒所制备文库可进行多种 RNA-Seq 应用, 包括:

基因表达(gene expression)

单核苷酸变异检测(single nucleotide variation discovery)

基因融合鉴定(gene fusion identification)

剪切变异体分析(splice variant analysis)

注意事项

一、关于操作

1. 冰袋或干冰运输。使用前请先混匀, 并避免反复冻融。
2. 请于使用前将试剂盒各组份置于室温或冰盒上解冻。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. 配制各步骤反应液时推荐使用移液器吹打混匀或轻轻振荡, 剧烈振荡可能会造成文库产出下降。
4. 推荐使用无 RNase 污染的耗材, 吸取不同样品时请更换枪头。
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; 使用专用的移液器等设备; 并定时对各实验区域进行清洁 (使用 0.5%次氯酸钠或 10%漂白剂进行擦拭清理), 以保证实验环境的洁净度。

二、关于接头连接

1. 客户可根据建库需求选择 Illumina 或者 MGI 平台的长接头试剂盒或者短接头试剂盒, 推荐使用 NGS UDI Adapter for Illumina(Cat# BR3N109)短接头试剂盒或 NGS UDB Primer for MGI, Set 1(Cat# BR3N107)短接头试剂盒。
2. 如客户使用自制接头, 请委托具有 NGS 引物合成经验的公司, 并备注需进行严格的防污染控制。此外, 进行接头退火操作时, 请在超净台完成。每次只操作一种接头, 防止交叉污染。
3. 使用接头时, 请提前将接头取出放在 4°C 或冰盒上解冻; 室温操作时, 实验室温度最好不要超过 25°C, 防止接头解链。
4. 建库过程中, 接头浓度过高或过低都会导致建库成功率变低。本试剂盒操作方案中, 所加入的接头体积固定为 5 µL, 请根据初始的 RNA 投入量, 参考表 1 对接头进行稀释。接头稀释液请选择 0.1×TE buffer, 稀释过的接头可在 4°C 保存 48 h。

表 1 Input Total RNA 量与接头浓度推荐表

Input Total RNA (ng)	接头浓度	接头稀释倍数
10 ng	1 µM	10
100 ng	1.5 µM	6
500 ng	3 µM	3
≥1 µg	5 µM	2

三、关于 PCR 扩增

1. 文库扩增步骤需要根据模板投入量调整扩增循环数。循环数不足会导致文库产量低; 循环数过多又将导致文库偏好性、重复度增加。表 2 列举了使用本试剂盒 Input Total RNA 量与相应扩增循环数。

表 2 Input Total RNA 量与扩增循环数推荐表

Input Total RNA (ng)	链特异性建库扩增循环	非链特异性建库扩增循环
10 ng	14	15
100 ng	13	14
500 ng	11	12
≥1 µg	10	11

注：由于文库产量不仅与投入量和扩增循环数相关，样本质量、片段化条件、分选条件等都会影响产量。建库过程中请根据实际情况综合考虑，选择最合适的建库条件。

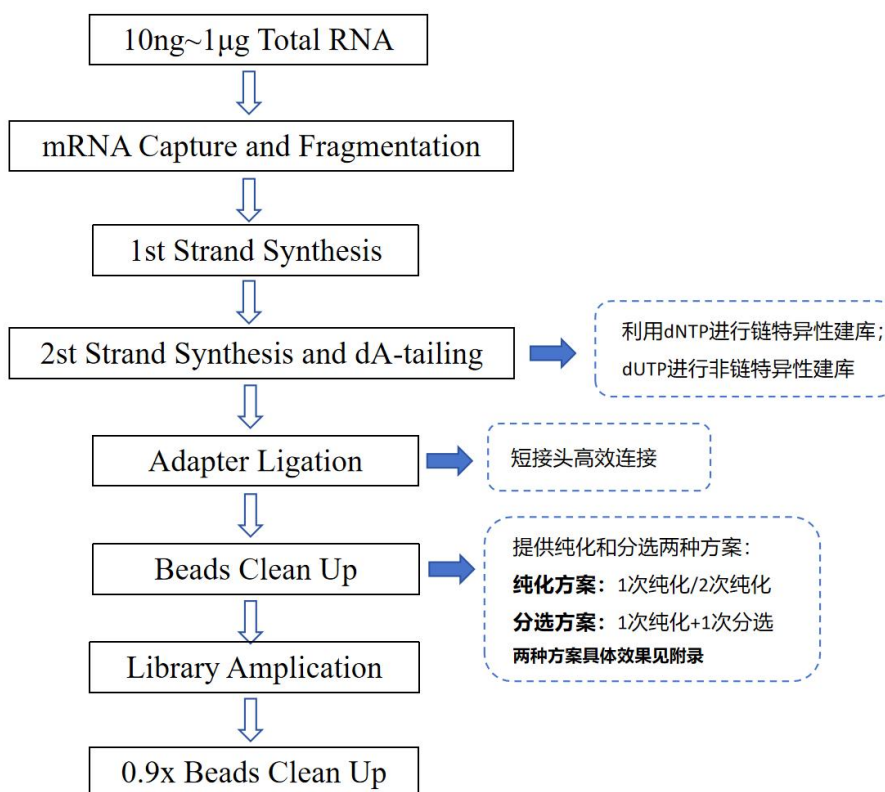
自备材料

需自备的试剂：扩增接头和引物、无核酸酶水(DNase、RNase free)、DNA 纯化磁珠(BR3N401: Biori® NGS DNA Clean Beads 或其他等效产品)、无水乙醇(分析纯)及 Qubit dsDNA HS Assay Kit。

需要自备的仪器设备包括：核酸定量仪、磁力架、移液枪、PCR 扩增仪、振荡器、掌上离心机、凝胶琼脂电泳仪或毛细管电泳设备。

需自备的耗材：0.2mL PCR 管(无菌且无核酸酶)、1.5mLEP 管(无菌且无核酸酶)、0.5mL Qubit 管、枪头、50mL 离心管等。

建库流程图



使用方法

1. mRNA 富集/rRNA 去除

- 1.1. mRNA 富集推荐使用 AcuGenix™ mRNA Capture Beads (Cat#BR3R101)，rRNA 去除根据需求选择相应主流产品。
- 1.2. 富集后的产物使用 22 μL Frag Buffer 重悬磁珠，用移液器吹打 6 次以上彻底混匀；
- 1.3. 将样品置于 PCR 仪中(预设 94℃)，可参考表 3 选择片段化程序，但不同物种片段化的效果有差异，客户可先根据自己的情况，做个片段化时间的梯度，比如 94℃，10 min/94℃，5 min/85℃，6min。使用 Agilent 2100 分析 mRNA 纯化产物大小。

表 3 片段化程序推荐

插入片段大小 (bp)	片段化程序
200-300 bp	94°C, 12 min
300-400 bp	94°C, 8 min
400-500 bp	94°C, 5 min

注: 不同片段时间对应文库长度分布见附录。

1.4. 片段化程序结束后, 为防止 poly(A)尾 RNA 与磁珠结合, 请立即将样品置于磁力架中, 待溶液澄清后, 转移 20 μ L 上清至一个新的 Nuclease Free 离心管中, 立刻进入第一链 cDNA 合成。

2. 文库构建

2.1. 一链 cDNA 的合成

(1) 将第一链合成试剂从冰箱取出, 轻微震荡混匀后瞬离。按表 4 所示, 配制第一链 cDNA 合成的反应液。

表 4 一链合成反应体系

组分名称	体积 (μ L)	备注
Fragmented mRNA	20	
1st Strand Buffer	8	
1st Strand Enzyme Mix	2	
Total	30	

(2) 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将管壁反应液离心至管底。根据下表 5 在 PCR 仪上设置程序并启动反应, 反应结束后立即进行第二链 cDNA 的合成。

表 5 一链合成反应程序

程序	温度	时间	循环	反应体积
热盖	105°C	/	/	30 μ L
退火	25°C	5min	1cycle	
逆转录	42°C	20min	1cycle	
灭活	70°C	15min	1cycle	
保温	4°C	∞	/	

2.2. 二链合成/末端修复/加 A

(1) 将第二链合成试剂从冰箱取出, 解冻后轻微震荡混匀; 按照表 6 所示, 配制第二链合成/末端修复/加 A 反应液。

表 6 二链合成/末端修复/加 A 反应体系

组分名称	体积 (μ L)	备注
1st Strand cDNA	30	
2nd Strand Buffer (dNTP or dUTP) ^a	25	
2nd Enzyme Mix	5	
Total	60	

注 a: 如构建普通 mRNA 文库, 请使用含 dNTP 的 Buffer; 如构建链特异性 mRNA 文库, 请使用含 dUTP 的 Buffer。

(2) 将上述产物轻微震荡混匀, 瞬时离心后根据下表 7 在 PCR 仪上设置程序并启动反应:

表 7 文库扩增反应程序

程序	温度	时间	循环	反应体积
热盖	105°C	/	/	60μL
二链合成	16°C	30min	1cycle	
修复加 A	72°C	15min	1cycle	
保温	4°C	∞	/	

2.3. 接头连接

该步骤在末端修复和 dA 尾添加的产物末端，连接特定的接头。

- (1) 参考注意事项二中的表 1，根据 Input RNA 量，稀释 Adapter 至合适浓度。
- (2) 将接头连接试剂从冰箱取出，解冻后轻微震荡混匀；按照表 8 所示，配制第接头连接反应液。

表 8 接头连接反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
dA-tailed DNA	60	
Ligation Buffer	30	
DNA Ligase	5	
Adapter ^a	5	
Total	100	

注 a: 本公司短接头原始浓度为 10 μM，请根据注意事项二表 1 的提示，根据投入量对接头进行稀释，使接头添加体积固定为 5 μL。如使用长接头，亦可参照注意事项二表 1 的提示，根据投入量对接头进行稀释。

- (3) 将上述产物轻微震荡混匀，瞬时离心后根据下表 9 在 PCR 仪上设置程序并启动反应：

表 9 接头连接反应程序

程序	温度	时间	循环	反应体积
热盖	Off	/	/	100μL
接头连接	20°C	15min	1cycle	
保温	4°C	∞	/	

2.4. 接头连接产物纯化/分选

本产品提供 3 种纯化/分选方案：方案一仅纯化 1 次（文库得率高，二聚体残留风险较高，更适合低模板投入量），方案二纯化 2 次（文库得率次之，二聚体更少），方案三纯化 1 次+分选 1 次（文库得率略低，文库分布均一，适用于高模板投入量），具体分选结果见附录，客户可根据需求选择不同纯化/分选方案。

★注：不同纯化磁珠纯化/分选效果有一定差异，建议客户根据预实验结果对磁珠纯化/分选比例进行微调。

方案一：接头连接产物纯化 1 次

- (1) 提前将 DNA 纯化磁珠从冰箱中取出，室温平衡 30 min，涡旋振荡离心备用。
- (2) 按照无水乙醇:无核酸酶水=8:2 比例配制 80%乙醇备用，例如：每 8 mL 无水乙醇和 2 mL 无核酸酶水混合配成 10 mL 80%乙醇，注意：80%乙醇需现配现用。
- (3) 振荡混匀纯化磁珠 3 次，每次 5 s，接着取 70 μL (0.7×) 纯化磁珠加入到 PCR 扩增产物中，涡旋振荡混匀后瞬时离心，置于室温静置 5 min。
- (4) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min，至产物完成澄清后用移液器小心弃掉上清液。

- (5) 往管中加入 200μL 80%乙醇, 使液面完全盖过磁珠, 将反应管继续留在磁力架上孵育 30 s, 用移液器小心吸弃上清。
- (6) 重复步骤 5 一次。
- (7) 将上述反应管从磁力架取下瞬时离心 3 秒, 再置于磁力架上, 用 10 μL 移液器小心吸弃全部废液。注意不要触碰到磁珠。
- (8) 打开管盖, 室温晾干 2~5 min。注意: 如天气干燥, 则观察磁珠表面无明显反光水膜时即可, 避免磁珠过度干燥。
- (9) 往反应管中加入 22 μL 无核酸酶水, 振荡重悬磁珠 5 s, 重复 2~3 次, 室温静置 2 min, 瞬时离心。
- (10) 将反应管置于磁力架上至溶液澄清, 小心吸取 20μL 上清到新保存管中, **接着进行步骤 2.5 文库扩增。**

方案二: 接头连接产物纯化 2 次 (推荐★)

- (1) 提前将 DNA 纯化磁珠从冰箱中取出, 室温平衡 30 min, 涡旋振荡离心备用。
- (2) 按照无水乙醇:无核酸酶水=8:2 比例配制 80%乙醇备用, 例如: 每 8 mL 无水乙醇和 2 mL 无核酸酶水混合配成 10 mL 80%乙醇, 注意: 80%乙醇需现配现用。
- (3) 振荡混匀纯化磁珠 3 次, 每次 5 s, 接着取 **80 μL (0.8×)** 纯化磁珠加入到 PCR 扩增产物中, 涡旋振荡混匀后瞬时离心, 置于室温静置 5 min。
- (4) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min, 至产物完成澄清后用移液器小心弃掉上清液。
- (5) 往管中加入 200μL 80%乙醇, 使液面完全盖过磁珠, 将反应管继续留在磁力架上孵育 30 s, 用移液器小心吸弃上清。
- (6) 重复步骤 5 一次。
- (7) 将上述反应管从磁力架取下瞬时离心 3 秒, 再置于磁力架上, 用 10 μL 移液器小心吸弃全部废液。注意不要触碰到磁珠。
- (8) 打开上述反应管管盖, 室温晾干 2~5 min。避免磁珠过度干燥。
- (9) 往反应管中加入 **102 μL 无核酸酶水**, 振荡重悬磁珠 5 s, 重复 2~3 次, 室温静置 2 min, 瞬时离心。
- (10) 将反应管置于磁力架上至溶液澄清, 小心吸取 100μL 上清到新保存管中, 接着加入 **80 μL (0.8×)** 纯化磁珠, 涡旋振荡混匀后瞬时离心, 置于室温静置 5 min。
- (11) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min, 至产物完成澄清后用移液器小心弃掉上清液。
- (12) 往管中加入 200μL 80%乙醇, 使液面完全盖过磁珠, 将反应管继续留在磁力架上孵育 30 s, 用移液器小心吸弃上清。
- (13) 重复步骤 12 一次。
- (14) 将上述反应管从磁力架取下瞬时离心 3 秒, 再置于磁力架上, 用 10 μL 移液器小心吸弃全部废液。注意不要触碰到磁珠。
- (15) 打开上述反应管管盖, 室温晾干 2~5 min。避免磁珠过度干燥。
- (16) 往反应管中加入 22 μL 无核酸酶水, 振荡重悬磁珠 5 s, 重复 2~3 次, 室温静置 2 min, 瞬时离心。
- (17) 将反应管置于磁力架上至溶液澄清, 小心吸取 20μL 上清到新保存管中, **接着进行步骤 2.5 文库扩增。**

方案三: 接头连接产物纯化 1 次+分选 1 次

- (1) 提前将 DNA 纯化磁珠从冰箱中取出, 室温平衡 30 min, 涡旋振荡离心备用。
- (2) 按照无水乙醇:无核酸酶水=8:2 比例配制 80%乙醇备用, 例如: 每 8 mL 无水乙醇和 2 mL 无核酸酶水混合配成 10 mL 80%乙醇, 注意: 80%乙醇需现配现用。
- (3) 振荡混匀纯化磁珠 3 次, 每次 5 s, 接着取 **80 μL (0.8×)** 纯化磁珠加入到 PCR 扩增产物中, 涡旋振荡混匀后瞬时离心, 置于室温静置 5 min。
- (4) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min, 至产物完成澄清后用移液器小心弃掉上清液。
- (5) 往管中加入 200μL 80%乙醇, 使液面完全盖过磁珠, 将反应管继续留在磁力架上孵育 30 s, 用移液器小心吸弃上清。
- (6) 重复步骤 5 一次。
- (7) 将上述反应管从磁力架取下瞬时离心 3 秒, 再置于磁力架上, 用 10 μL 移液器小心吸弃全部废液。注意不要触碰到磁珠。
- (8) 打开上述反应管管盖, 室温晾干 2~5 min。避免磁珠过度干燥。
- (9) 往反应管中加入 **102 μL 无核酸酶水**, 振荡重悬磁珠 5 s, 重复 2~3 次, 室温静置 2 min, 瞬时离心。

- (10) 将反应管置于磁力架上至溶液澄清, 小心吸取 100μL 上清到新保存管中, 准备双轮分选 (分选条件参考表 10), 以 94°C, 8 min 打断, 分选文库大小为 310 bp~410 bp 为例。
- (11) 接着加入 70 μL (0.7×) 纯化磁珠, 涡旋振荡混匀后瞬时离心, 置于室温静置 5 min。
- (12) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min, 至产物完成澄清后用移液器转移上清至新的反应管中, 接着往反应管中添加 15 μL (0.15×) 纯化磁珠, 涡旋振荡混匀后瞬时离心, 置于室温静置 5 min。
- (13) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min, 至产物完成澄清后用移液器小心弃掉上清液。
- (14) 往管中加入 200μL 80%乙醇, 使液面完全盖过磁珠, 将反应管继续留在磁力架上孵育 30 s, 用移液器小心吸弃上清。
- (15) 重复步骤 14 一次。
- (16) 将上述反应管从磁力架取下瞬时离心 3 秒, 再置于磁力架上, 用 10 μL 移液器小心吸弃全部废液。注意不要触碰磁珠。
- (17) 打开上述反应管管盖, 室温晾干 2~5 min。避免磁珠过度干燥。
- (18) 往反应管中加入 22 μL 无核酸酶水, 振荡重悬磁珠 5 s, 重复 2~3 次, 室温静置 2 min, 瞬时离心。
- (19) 将反应管置于磁力架上至溶液澄清, 小心吸取 20μL 上清到新保存管中, 接着进行步骤 2.5 文库扩增。

表 10 文库分选推荐磁珠比例

插入片段	200~300bp	250~350bp	350~450bp	450~550bp
文库长度(bp)	260~360bp	310~410bp	410~510bp	510~610bp
打断条件	94 °C 10 min	94 °C 8 min	94 °C 5 min	94°C 5 min
第一轮磁珠体积(μL)	80 (0.8×)	70 (0.7×)	60 (0.6×)	55 (0.55×)
第二轮磁珠体积(μL)	15 (0.15×)	15 (0.15×)	15 (0.15×)	15 (0.1×)

2.5. 文库扩增

该步骤将对纯化或长度分选后的接头连接产物进行 PCR 扩增富集。

- (1) 将 PCR 扩增试剂从冰箱取出, 解冻后轻微震荡混匀; 按照表 11 所示, 配制 PCR 扩增反应液。

表 11 PCR 扩增反应体系

组分名称	体积 (μL)	备注
Adapter Ligated DNA	20	
2×HS Amplification Mix	25	
Adapter/Primer ^a	5	
Total	50	

注 a: 如接头连接过程使用短接头, 该步骤使用对应的带 Index 的接头; 如接头连接过程使用长接头, 则该步骤使用对应的 PCR Primer; 接头或 PCR Primer 的终浓度推荐 1μM。

- (2) 将上述产物轻微震荡混匀, 瞬时离心后根据下表 12 在 PCR 仪上设置程序并启动反应:

表 12 PCR 扩增反应程序

程序	温度	时间	循环	反应体积
热盖	105℃	/	/	50μL
解链	95℃	3min	1cycle	
变性	98℃	15s	9-14cycle ^a	
退火	60℃	30s		
延申	72℃	30s		
保温	4℃	∞	/	

注 a: 扩增循环数根据注意事项三中表 2 推荐循环数进行扩增。

2.6. 扩增产物纯化

- (1) 提前将 DNA 纯化磁珠从冰箱中取出, 室温平衡 30 min, 涡旋振荡离心备用。
- (2) 按照无水乙醇:无核酸酶水=8:2 比例配制成 80%乙醇备用, 例如: 每 8 mL 无水乙醇和 2 mL 无核酸酶水混合配成 10 mL 80%乙醇, 注意: 80%乙醇需现配现用。
- (3) 振荡混匀纯化磁珠 3 次, 每次 5 s, 接着取 **45 µL (0.9×)** 纯化磁珠加入到 PCR 扩增产物中, 涡旋振荡混匀后瞬时离心, 置于室温静置 5 min。
- (4) 将反应管置于磁力架上静置 1~2 min, 至产物完成澄清后用移液器小心弃掉上清液。
- (5) 往管中加入 200µL 80%乙醇, 使液面完全盖过磁珠, 将反应管继续留在磁力架上孵育 30 s, 用移液器小心吸弃上清。
- (6) 重复步骤 5 一次。
- (7) 将上述反应管从磁力架取下瞬时离心 3 秒, 再置于磁力架上, 用 10 µL 移液器小心吸弃全部废液。注意不要触碰到磁珠。
- (8) 打开上述反应管管盖, 室温晾干 2~5 min。注意: 如天气干燥, 则观察磁珠表面无明显反光水膜时即可, 避免磁珠过度干燥。
- (9) 往反应管中加入 22 µL 无核酸酶水, 振荡重悬磁珠 5 s, 重复 2~3 次, 室温静置 2 min, 瞬时离心。
- (10) 将反应管置于磁力架上至溶液澄清, 小心吸取 20µL 上清到新保存管中。文库产物置于-20℃条件下保存。

3. 文库质检和定量

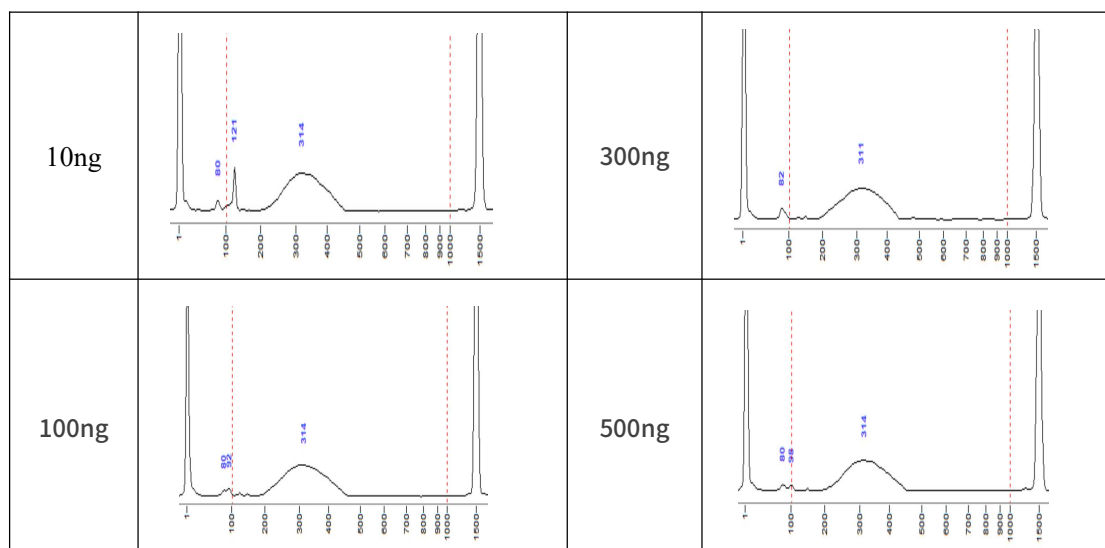
3.1 文库浓度测定: 使用 Qubit 4.0 Fluorometer 及 Qubit dsDNA HS Assay Kit 检测文库浓度。

3.2 文库片段分布检测: 将制备好的文库在 LabChip GX、GXII、GX Touch (PerkinElmer); Bioanalyzer、Tapestation (Agilent Technologies); Fragment Analyze (Advanced Analytical)等基于电泳分离原理的设备进行检测或通过琼脂糖凝胶电泳进行片段分布检测。文库片段主要分布在 250-55bp 之间。

附录：接头连接产物三种不同纯化方式文库分布情况

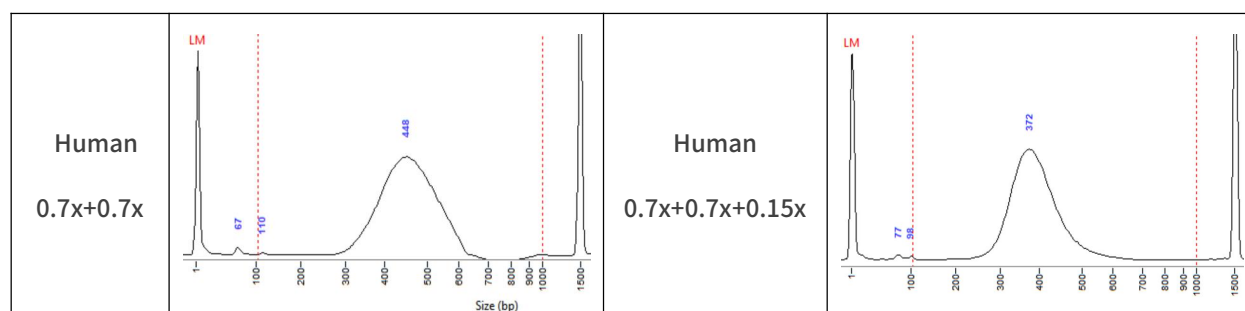
方案一：接头连接产物纯化 1 次

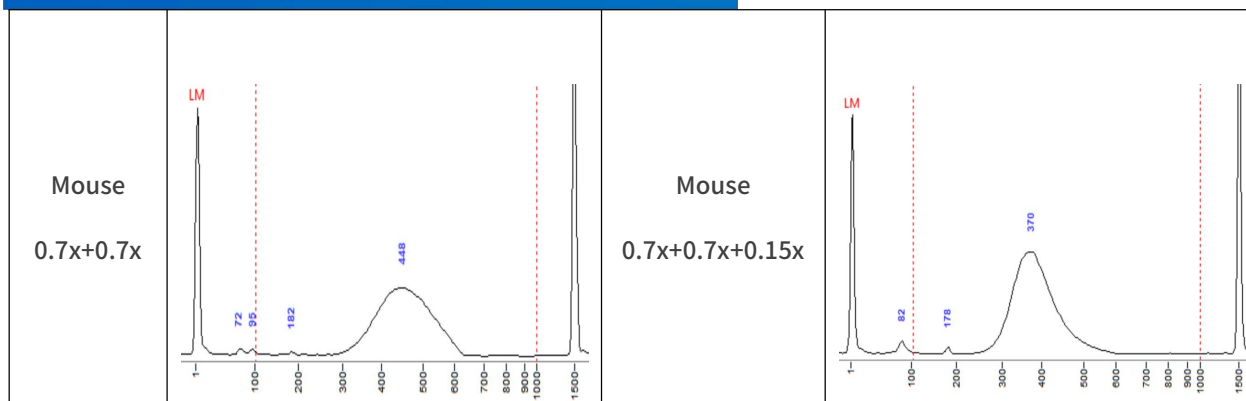
TotalRNA 模板投入量	mRNA 富集	片段化	扩增循环数	纯化方式	文库产量	文库主峰
Rice: 10ng	磁珠法	94°C, 8min	15cycle	0.8x	315 ng	319bp
Rice: 100ng	磁珠法	94°C, 8min	14cycle	0.8x	1075 ng	314bp
Rice: 300ng	磁珠法	94°C, 8min	13cycle	0.8x	1455 ng	311bp
Rice: 500ng	磁珠法	94°C, 8min	12cycle	0.8x	2330 ng	314bp



方案二/方案三：接头连接产物纯化 2 次 VS 纯化 1 次+分选 1 次

TotalRNA 模板投入量	mRNA 富集	片段化	扩增循环数	纯化方式	文库产量	文库主峰
Human: 150ng	磁珠法	94°C, 8min	12cycle	0.7x+0.7x	2240 ng	448bp
Human: 150ng	磁珠法	94°C, 8min	12cycle	0.7x+0.7x+0.15x	1092 ng	372bp
Mouse: 150ng	磁珠法	94°C, 8min	12cycle	0.7x+0.7x	3080 ng	448bp
Mouse: 150ng	磁珠法	94°C, 8min	12cycle	0.7x+0.7x+0.15x	1760 ng	370bp




方案三：接头连接产物纯化 1 次+分选 1 次不同磁珠比例文库分布情况

TotalRNA 模板投入量	片段化	扩增循环数	纯化方式	文库产量	文库主峰
Human: 50ng	94°C, 10min	13cycle	0.7x+0.8x+0.15x	1100 ng	358bp
Human: 50ng	94°C, 8min	13cycle	0.7x+0.7x+0.15x	1196 ng	396bp
Human: 50ng	94°C, 5min	13cycle	0.7x+0.6x+0.15x	1360 ng	448bp
Human: 50ng	94°C, 5min	13cycle	0.7x+0.55x+0.1x	1416 ng	582bp

