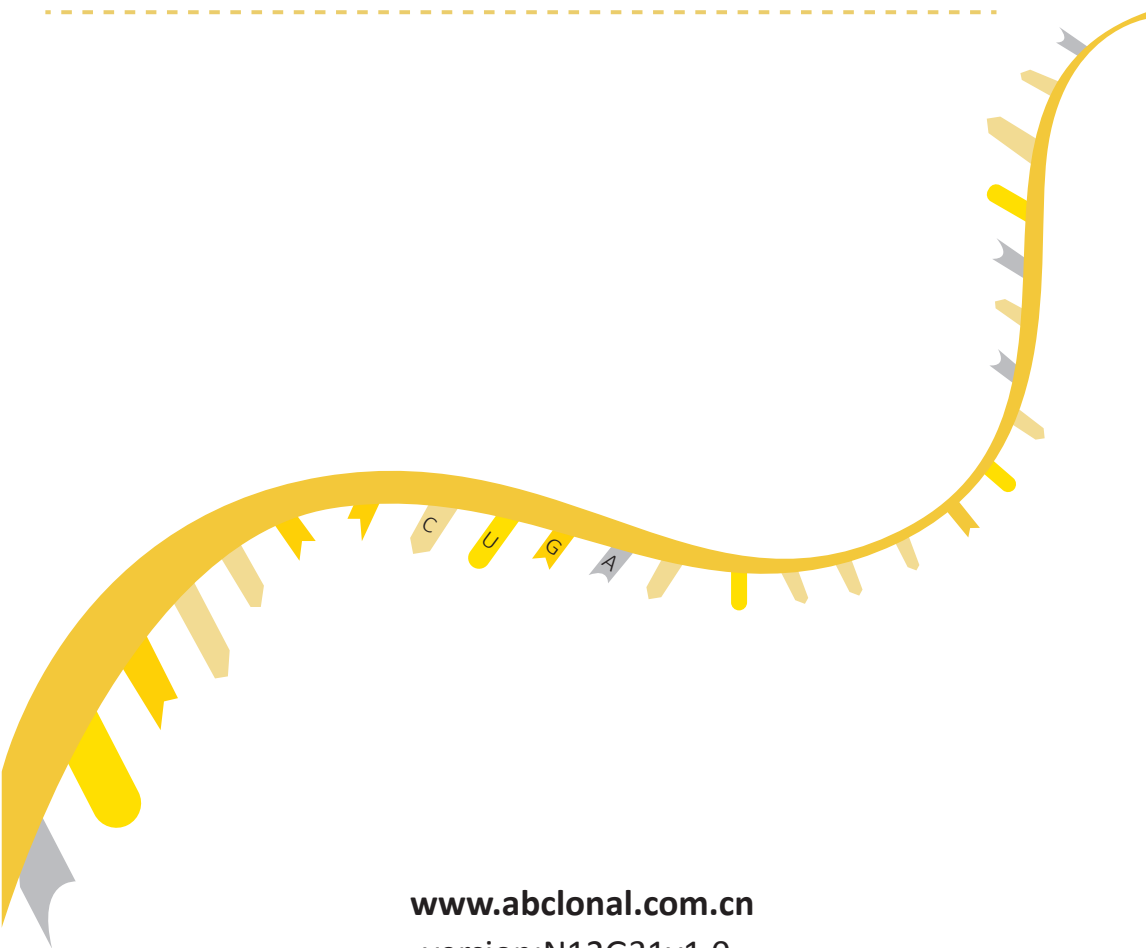




ABclonal Second Strand Synthesis Module

RK20346



www.abclonal.com.cn

version:N12G31v1.0

1. 产品介绍

ABclonal Second Strand Synthesis Module (RK20346)是以ABclonal First Strand cDNA Synthesis Module (RK20342或者RK20353)产物为模板进行second strand cDNA合成以生成双链cDNA产物。此双链cDNA产物可以直接用来进行DNA建库。

2. 产品组分

试剂组分	24 次 (RK20346M)	96 次 (RK20346L)	500 次 (RK20346XL)
Second Strand Synthesis Reaction Buffer	192 μ L	768 μ L	4 mL
Second Strand Synthesis Enzyme Mix	96 μ L	384 μ L	1 mL \times 2
Nuclease-free Water	2mL	8mL	-

3. 保存条件

-20°C保存。

4. 自备材料

First strand cDNA产物，由ABclonal First Strand Synthesis Module (RK20342或者RK20353) 制备；

磁力架；

80% 乙醇（新鲜制备）；

200 μ L PCR tube；

Agencourt AMPure XP beads；

PCR仪器；

移液器。

5. 实验过程

1. First strand cDNA合成
推荐使用ABclonal First Strand Synthesis Module (RK20342或者RK20353) 制备first strand cDNA产物。
2. Second strand cDNA合成
 - 2.1 将Second Strand Synthesis Reaction Buffer从冰箱中取出冰上溶解，并按照下表体系依次加入各试剂：

试剂	体积
first strand cDNA	20 μ L
Second Strand Synthesis Reaction Buffer	8 μ L
Second Strand Synthesis Enzyme Mix	4 μ L
Nuclease-free Water	48 μ L
总体积	80 μ L

- 2.1 使用移液器吹打混匀，瞬时离心后，置于PCR仪（热盖温度关闭），16 $^{\circ}$ C 孵育1h；
3. 双链cDNA产物纯化
 - 3.1 提前将Agencourt AMPure XP beads从2-8 $^{\circ}$ C冰箱取出，静置平衡至室温，使用前涡旋或者震荡混匀；
 - 3.2 样本孵育结束后，每个样本加入144 μ L Agencourt AMPure XP beads (1.8 \times)，使用移液器吹打混匀；
 - 3.3 室温静置5min，然后转移至磁力架上放置~5min，直至溶液变澄清，小心弃除上清；
 - 3.4 将PCR管保持在磁力架上，加入200 μ L 80%乙醇，静置30s，然后弃除全部上清；
 - 3.5 重复3.4，将磁珠用80%乙醇再洗1次后，用10 μ L移液器吸头将残留液体彻底吸干；
 - 3.6 干燥磁珠2-3min，待酒精挥发完全后，加入39 μ L Low-EDTA TE，吹打混匀；
 - 3.7 室温静置2min，磁力架上放置1min，直到溶液变澄清，小心吸取37 μ L上清至另一个干净的PCR管中；
 - 💧 纯化好的双链cDNA可以立即进行后续建库，也可-20 $^{\circ}$ C暂存备用。

中国

www.abclonal.com.cn

中国总部：武汉市东湖新技术开发区高新二路388号光谷国际生物医药企业加速器三期7栋4层

上海分部：上海市浦东新区张江高科技园区哥白尼路150号1号楼三楼

北京分部：北京市西城区西直门外大街18号金贸大厦A1127室

南京分部：南京市白下区石鼓路98号阳光大厦20楼C座

成都分部：成都市金牛区一环路北三段1号金牛万达广场SOHO D座3210室

杭州分部：杭州市西湖区古墩路671号申悦国际B座1530

电话：400-999-6126

邮箱：cn.market@abclonal.com