

Second Strand Synthesis Module

RK20346



使用说明书

Version: N20E08V5.6

目录

1. 产品概述	1
2. 产品组分	1
3. 保存及运输条件	1
4. 其他自备材料	1
5. 操作流程	2

1. 产品概述

ABclonal second strand synthesis Module (ABclonal, Cat.RK20346)是以 ABclonal First strand 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

试剂管名称与颜色	24 RXN	96 RXN	500 RXN
● 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*2
● Nuclease-free water	1 mL*2	8 mL	-

注 1. ● 代表管盖颜色；

3. 保存及运输条件

试剂盒长途运输：尽量采用干冰运输，或者干冰结合冰袋方式，在-40 ~ -20℃温度条件下进行运输。

试剂盒保存：-20℃冰箱。

4. 其他自备材料

- First strand cDNA 产物，由 ABclonal First strand synthesis Module(RK20342 或 RK20353)制备；
- 磁力架
- 80%乙醇(新鲜制备) ；
- 200 μ LPCR tube；
- Agencourt AMPure XP beads；
- PCR 仪器；
- 移液器。

5. 操作流程

5.1 First strand cDNA 合成

5.1.1 推荐使用ABclonal First strand synthesis Module(RK20342或者 RK20353)制备first strand cDNA产物。

5.2 Second strand cDNA的合成

5.2.1 将second strand synthesis Reaction Buffer从冰箱中取出冰上溶解，并按按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
Total	80 μ L

5.2.2 使用移液器吹打混匀，瞬时离心，将体系置于PCR仪（热盖温度关闭），16°C孵育 1 hr：

5.3 双链 cDNA 产物纯化

5.3.1 提前将 Agencourt AMPure XP beads 从 2-8°C 冰箱取出，静置平衡至室温，使用前涡旋或者振荡混匀。

5.3.2 样本孵育结束后，每个样本加入144 μ L Agencourt AMPure XP beads(1.8x)，使用移液器吹打混匀。

5.3.3 室温静置5 min，然后转移至磁力架上放置~5 min，直至溶液变澄清，小心弃除上清。

5.3.4 将PCR管保持在磁力架上，加入200 μ L80%乙醇，静置30s，然后弃除全部上清。

5.3.5 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。

5.3.6 干燥磁珠2-3 min，待酒精挥发完全后，加入39 μ L Low EDTA TE，吹打混匀。

5.3.7 室温静置2 min，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。

5.3.8 纯化好的双链cDNA可以立即进行后续建库，也可-20°C暂存备用。

武汉爱博泰克生物科技有限公司

电话：400-999-6126

邮箱：cn.market@abclonal.com

网址：www.abclonal.com.cn

地址：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