

# ABclonal Second Strand Synthesis Module (Stranded)

RK20343



[www.abclonal.com.cn](http://www.abclonal.com.cn)  
version: N12C16v1.0

# 1. 产品介绍

ABclonal Second Strand Synthesis Module (Stranded) (RK20343) 是以 ABclonal First strand cDNA synthesis 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。

ABclonal Second Strand Synthesis Module (Stranded) 的 Second Strand Synthesis Reaction Buffer with dUTP 含有 dUTP，所合成 cDNA 的第二条链含有 dUTP 碱基。在后续 DNA 文库构建的 PCR 富集步骤前，UDG 酶将 second strand cDNA 水解，以确保最终测序数据都来自 first strand cDNA，保留 mRNA 测序链方向性。

# 2. 产品组分

试剂组分	24次 (RK20343M)	96次 (RK20343L)	500次 (RK20343XL)
Second Strand Synthesis Reaction Buffer with dUTP	192 $\mu$ L	768 $\mu$ L	4 mL
Second strand Synthesis Enzyme Mix	96 $\mu$ L	384 $\mu$ L	1 mL X 2
Nuclease-free Water	2 mL	8 mL	-

# 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 (Stranded)(RK20342)制备；

磁力架；

80% 乙醇（新鲜制备）；

200  $\mu$ 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)制备 first strand cDNA 产物。

## 2. Second strand cDNA 的合成

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 $\mu$ L
Second Strand Synthesis Reaction Buffer with dUTP	8 $\mu$ L
Second Strand Synthesis Enzyme Mix	4 $\mu$ L
Nuclease-free Water	48 $\mu$ L
总体积	80 $\mu$ L

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：

## 3. 双链 cDNA 产物纯化

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；

3.2 样本孵育结束后，每个样本加入 144  $\mu$ L Agencourt AMPure XP beads (1.8X)，使用移液器吹打混匀；

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；

3.4 将 PCR 管保持在磁力架上，加入 200  $\mu$ L 80% 乙醇，静置 30 s，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  $\mu$ L 移液器吸头将残留液体彻底吸干；

3.6 干燥磁珠 2-3 min，待酒精挥发完全后，加入 39  $\mu$ L Low EDTA TE，吹打混匀；

3.7 室温静置 2 min，磁力架上放置 1 min，直到溶液变澄清，小心吸

取37  $\mu\text{L}$ 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 $-20^{\circ}\text{C}$ 暂存备用。

中国

[www.abclonal.com.cn](http://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](mailto:cn.market@abclonal.com)