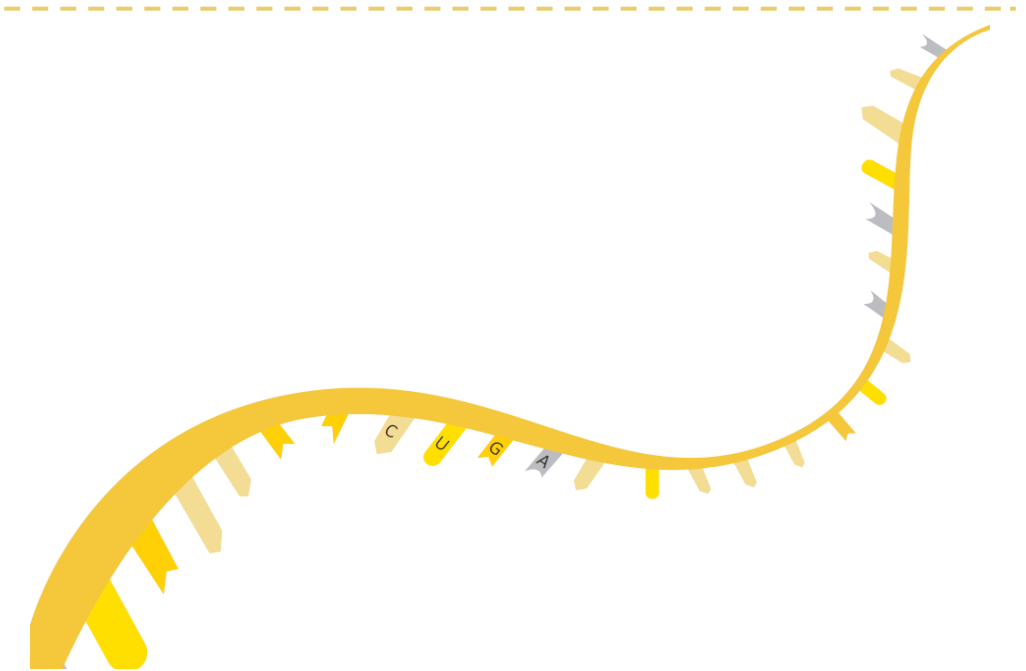




# ABclonal Second Strand Synthesis Module

RK20346



[www.abclonal.com.cn](http://www.abclonal.com.cn)  
version: N14C16v1.1

## 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	192 $\mu$ L	768 $\mu$ L	4 mL
Buffer			
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

(RK20342或RK20353)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 或者 RK20353) 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	8 $\mu$ L
Second Strand Synthesis Enyme 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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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°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)