

ABclonal First Strand Synthesis Module

RK20353



www.abclonal.com.cn
version: N12C16v1.1

1. 产品概述

ABclonal First Strand Synthesis Module (RK20353)适用于RNA-seq文库构建中RNA片段化和first strand cDNA合成。First strand cDNA产物无需纯化可直接进行后续的second strand cDNA的合成。该模块中的RT Reagent不含有Actinomycin D, 可搭配ABclonal Second Strand Synthesis Module (RK20346) 使用制作RNA文库。另外, Frag/ Elute Buffer是通过Mg²⁺高温条件对RNA进行片段化, 因而用以打断的RNA样品中不能含有Mg²⁺等金属离子或EDTA等金属离子螯合剂等, 否则会影响RNA的片段化大小。

2. 产品组分

试剂组分	24次 (RK20353M)	96次 (RK20353L)	500次 (RK20353XL)
2XFrag / Elute Buffer	144 μL	576 μL	1.5 mL X 2
RT Reagent	192 μL	768 μL	4 mL
First strand Synthesis Enzyme Mix	48 μL	192 μL	1 mL

3. 保存条件

-20°C保存。

4. 自备材料

Poly(A)RNA, 由ABclonal Poly(A) mRNA Purification Module (RK20341)制备;
rRNA depleted RNA, 由ABclonal rRNA Depletion Module (H / M / R) (RK20348)
制备;
200 μ L PCR tube;
PCR仪器;
移液器。

5. 实验过程

实验方案 1, 以 total RNA 作为起始材料

若起始实验材料为total RNA, 推荐采用ABclonal Poly(A) mRNA Purification Module (RK20341)或者ABclonal rRNA Depletion Module (H / M / R) (RK20348)对所需的RNA进行分离纯化; 最后直接在纯化磁珠上加入1XFrag / Elute buffer进行RNA的洗脱与片段化过程。注意: 1XFrag / Elute buffer可由2XFrag / Elute Buffer加入1倍体积的nuclease-free水稀释获得。

实验方案2, 以纯化后RNA作为起始材料

若实验起始材料为已纯化好的Poly(A) mRNA或rRNA depletion RNA, 可选用该模块提供的2XFrag / Elute Buffer对纯化好的RNA直接进行片段化过程, 然后立即进行first strand cDNA合成反应。

1. RNA 片段化

1.1 将纯化的 poly(A) RNA 或 rRNA depleted RNA 按照下表配制体系：

试剂	体积
poly(A) RNA 或 rRNA depleted RNA	5 μ L
2 \times Frag / Elute Buffer	5 μ L
总体积	10 μ L

1.2 移液器吹打混匀，将体系置于 PCR 仪中进行打断：

打断片段大小	打断条件
200-300 nt	94°C 15 min, 4°C hold
300-450 nt	94°C 10 min, 4°C hold
400-700 nt	94°C 5 min, 4°C hold

2. First strand cDNA 的合成

2.1 取出 RT Reagent 室温溶解，冰上配制如下体系：

试剂	体积
RNA 打断产物	10 μ L
RT Reagent	8 μ L
First Strand Synthesis Enzyme Mix	2 μ L
总体积	20 μ L

2.2 使用移液器吹打混匀，瞬时离心，将体系置于 PCR 仪：

温度	时间
25°C	10 min
42°C	15 min
70°C	15 min
4°C	Hold

2.3 立即进行 second strand cDNA 的合成，推荐使用 ABclonal Second Strand Synthesis Module (RK20346)。

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