



# ABclonal First Strand Synthesis Module (Stranded)

RK20342



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

version: N12H31v1.1

# Contents

1、产品介绍	01
2、产品组分	01
3、保存条件	01
4、自备材料	01
5、实验过程	02

# 1. 产品介绍

ABclonal First Strand Synthesis Module (Stranded) (RK20342)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 Strand Specificity Reagent含有Actinomycin D以提高链特异性,可搭配ABclonal Second Strand Synthesis Module (Stranded) (RK20343)使用制作链特异性RNA文库。另外, Frag / Elute Buffer是通过Mg<sup>2+</sup>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Mg<sup>2+</sup>等金属离子或EDTA等金属离子。

# 2. 产品组分

试剂组分	24次 (RK20342M)	96次 (RK20342L)	500次 (RK20342XL)
2XFrag / Elute Buffer	144 μL	576 μL	1.5 mL X 2
RT Strand Specificity 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  $\mu$ 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) RNA 或 rRNA depleted 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 $\mu$ L
2XFrag / Elute Buffer	5 $\mu$ L
总体积	10 $\mu$ 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 Strand Specificity Reagent 室温溶解，冰上配制如下体系：

试剂	体积
RNA 打断产物	10 $\mu$ L
RT Strand Specificity Reagent	8 $\mu$ L
First Strand Synthesis Enzyme Mix	2 $\mu$ L
总体积	20 $\mu$ 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 (Stranded) (RK20343)。





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)