

GDS Directional RNA Second Strand Synthesis

Module

使用说明书

货号/规格: K021-A/24 rxns; K021-B/96 rxns

产品简介

GDS Directional RNA Second Strand Synthesis Module 特异性 RNA 第二链合成模块已经过优化, 可使用 GDS RNA First Strand Synthesis Module (# K020) 合成的第一链 cDNA 生成双链 cDNA。由 GDS Directional RNA Second Strand Synthesis Module 产生的 dsDNA 随后可以使用 GDS End Repair/dA-Tailing Module (# K025) 转化为平末端 DNA 片段。

产品组成

组分	K021-A (24 rxns)	K021-B (96 rxns)
GDS Second Strand Synthesis Enzyme Mix	96 μ L	384 μ L
GDS Second Strand Synthesis Reaction Buffer with dUTP Mix	192 μ L	768 μ L

储存条件及有效期

所有试剂均应保存于-20℃, 产品有效期为 18 个月。

适用范围

用于 NGS 建库中的 RNA 合成第二链 cDNA。

应用举例

起始材料: 用 GDS RNA First Strand Synthesis Module 合成的第一链 cDNA 20 μ L

1. 第二链 cDNA 合成

1.1 将以下组分加入到第一链合成反应产物中, 在冰上组装第二链 cDNA 合成反应:

组分	用量
第一链合成产物	20 μ L
GDS Second Strand Synthesis Reaction Buffer with dUTP Mix	8 μ L
GDS Second Strand Synthesis Enzyme Mix	4 μ L
Nuclease-free Water	48 μ L
总体积	80 μ L

1.2 保持 PCR 管在冰上, 用移液器轻轻上下移液至少 10 次, 使整个体积混合均匀。

1.3. 将样品放入热循环器中, 在 16℃ 下孵育 1 小时, 设置热盖 $\leq$ 40℃ (或关闭)。

2. 用 GDSPure DNA Selection Magbeads 纯化双链 cDNA

2.1 涡旋 GDSPure DNA Selection Magbeads, 使磁珠混匀。

2.2 加入 144 μ L (1.8X) 磁珠悬液至第二链合成产物中 (~80 μ L), 用移液器轻轻吹打 10 次 (或涡旋 30s), 室温静置 5min。

2.3. 将离心管置于磁力架上至溶液变得澄清, 用移液器吸去上清, 弃上清。注意不要吸到磁珠。

2.4. 保持离心管在磁力架上, 加入 200 μ L 80% 乙醇, 请勿吹打磁珠。室温静置 30s 后, 用移液器吸去上清, 弃上清。

2.5. 重复步骤 2.4 一次。

注意: 最后一次洗涤完成时应尽量吸取干净洗涤液。

2.6. 保持离心管在磁力架上, 风干 5 min 至磁珠表面无明显光泽。

注意: 该步骤应避免磁珠干燥过度而影响洗脱效率。磁珠表面有裂痕即代表干燥过度。

2.7. 将离心管从磁力架上取下, 向管中加入 53 μ L 0.1X TE 缓冲液, 并反复吹打至少 10 次 (或涡旋 30s), 使磁珠与溶液充分混匀, 室温静置 2 min。

2.8. 将离心管置于磁力架上至溶液变得澄清, 将 50 μ L 上清液转移到新的离心管中, 即完成纯化。

2.9 产物可放在-20℃保存, 或使用 GDS End Repair/dA-Tailing Module (# K025) 进行末端修复。

本品仅供科学研究使用。