

xLiBPreP™ 酶切模块试剂盒

# 操作说明书

(Cat#NC010, Version1.1)

欣基（杭州）生物科技有限公司  
WisGen BioSciences Co., Ltd

For Research Use Only.

Not For Use in Diagnostic Procedures.

仅供科研使用

## 目录

产品组成 .....	1
产品概述 .....	1
保存及运输条件 .....	1
适用范围 .....	1
注意事项 .....	2
实验前准备 .....	3
实验流程 .....	5
1. 酶切片段化 DNA .....	5

## 产品组成

主货号：NC010    规格：24 rxns / 96 rxns

产品组分	24 rxns (NC010-024)	96 rxns(NC010-096)
● Smear Buffer	108 $\mu$ L	432 $\mu$ L
● Smear Enzyme	120 $\mu$ L	480 $\mu$ L
○ 1× TE Buffer	3 mL	10 mL

## 产品概述

xLiBPreP™ 酶切模块试剂盒是一款针对高通量测序平台设计的兼容 xLiBPreP™ 快速建库试剂盒的酶切试剂。本品采用高质量的片段化酶，酶切效果稳定，偏好性低，摆脱了超声打断的仪器限制，可有效降低片段化的时间和成本，让片段化过程变得更加简单高效。

## 保存与运输条件

-30 ~ -15 °C保存，≤ 0 °C运输。

## 适用范围

本产品适用于 Illumina/MGI 高通量测序平台的文库构建。

### 1. 兼容样本类型

完整基因组 DNA (genomic DNA)、石蜡样本 DNA (FFPE DNA)、  
免疫共沉淀 DNA (ChIP DNA) 等。

### 2. DNA 起始量

1 ~ 500 ng。

### 3. 应用场景

配套 xLiBPreP™ 快速建库试剂盒使用。

## 注意事项

**!** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 操作过程请注意避免核酸样本和产物之间的交叉污染。
2. 请使用不含 RNA 酶或 DNA 酶的吸头、离心管进行实验。
3. 实验开始前，请清洁操作台，确保没有 RNA 酶和 DNA 的污染。
4. 为保证酶切效果，DNA 推荐溶于 1× TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0)。
5. 若 DNA 溶于 1× TE Buffer，片段化体系需使用 1× TE Buffer 补齐，如用水补齐，会导致文库片段严重偏小。
6. 若 DNA 已经溶于 Nuclease-Free Water、AE 等 Low-EDTA 溶液且 DNA 浓度较低，可添加 10× TE Buffer，使反应体系在 1× TE Buffer 中进行。
7. 试剂盒中所有酶制剂在使用完毕后，应立即置于 -20 °C 进行保存，以免降低酶的活性，影响建库结果。

## 实验前准备

### 1. DNA 准备

本试剂盒包含 DNA 片段化相关试剂。具体操作请参考相关产品说明。

### 2. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
WisGen# MB002	xPure™ 分选磁珠	也可使用 Agencourt® AMPure XP Beads 进行代替
WisGen# QC001	xQuant™ DNA 高灵敏定量试剂盒 (适配 Qubit® 平台)	用于投入 DNA 浓度及文库浓度的检测
*	Nuclease-Free Water	/
*	无水乙醇	/
*	0.1× TE Buffer	/

⬆ \* 常规实验室供应商品牌即可

### 3. 自备材料

#### 实验仪器及耗材

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
*	PCR 基因扩增仪	/
*	微型离心机	/
*	涡旋振荡混匀仪	/
*	移液器	单通道或多通道
Thermo Fisher# Q33216	Qubit® 3.0 Fluorometer	可选择基于荧光染料法的 DNA 定量系统的其它同类产品
Agilent#G2939AA	Agilent 2100 Electrophoresis Bioanalyzer® system	或其它同类产品

WisGen#MR-C-16	xMag™ 磁力架 (0.2 mL*16 孔 )	或其它同类产品
WisGen#QC001-R	xQuant™ 管 (适配 Qubit® 平台)	可选择适配 Qubit® 荧光计的其它同类产品
WisGen#QC002-R	xQuant™ 检测联管 (适配 Qubit® 平台)	可选择适配 Qubit® Flex 荧光计的其它同类产品
Axygen#PCR-02-C	0.2 mL 透明平盖 PCR 薄壁管	可选择无核酸酶的 其它同类产品
Axygen# PCR-0208-C	0.2 mL 八连排透明 PCR 薄壁管	可选择无核酸酶的 其它同类产品
*	1.5 mL 无色灭菌离心管	建议选择无核酸酶的 产品
*	1000 μL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	200 μL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	0.5 - 10 μL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	PCR 基因扩增仪	/
*	微型离心机	/

⬆️ \* 常规实验室供应商品牌即可

## 实验流程

### 1. 酶切片段化 DNA

#### 1.1 试剂准备

1.1.1 在开始实验前，确定 DNA 浓度和投入量。

**！ 注意：**确定投入的 DNA 浓度至关重要，尤其在投入量低于 100 ng 时，推荐使用染料法对 DNA 浓度进行准确定量。

常见基因组 DNA 片段化时间请参考下表：

DNA 片段主峰大小	片段化时间	优化范围
400 bp	6 min	5 - 8 min
300 bp	10 min	8 - 12 min
200 bp	15 min	12 - 18 min
100 bp	20 min	18 - 25 min


**！ 注意：**以上为高质量 DNA 推荐的片段化时间，当 DNA 质量较差时，应适减少片段化时间。


1.1.2 将试剂盒中各组份置于冰上融化。Smear Enzyme 用手指轻弹混匀，不要涡旋。其余试剂可短暂涡旋混匀。

## 1.2 实验步骤

**1.2.1** 取 0.2 mL PCR 管，并按下表配制反应体系，冰上操作，待各组全部加入后，涡旋振荡混匀。


组分	体积/质量
Smear Enzyme	5 $\mu$ L
Smear Buffer	4.5 $\mu$ L
DNA sample	X $\mu$ L
1 $\times$ TE Buffer*	Up to 30 $\mu$ L
<b>总体积</b>	<b>30 <math>\mu</math>L</b>

 \* 酶切反应体系必须加入 1 $\times$  TE Buffer 抑制酶活，否则会导致片段严重偏小。1 $\times$  TE Buffer 可用 10 $\times$  TE Buffer 代替，加 2  $\mu$ L，剩余体积可用无核酶水补足。

 **注意：**对于多个反应，请计算所需试剂的总体积，并在此基础上增加 10%，涡旋混匀，再依次分装到 PCR 管中，避免因溶液转移过程中挂壁损失而造成分装反应数不足的问题。

**1.2.2** 照下表设置 PCR 仪反应程序，热盖温度设置为 85  $^{\circ}$ C。

反应步骤	反应温度( $^{\circ}$ C)	时间
1	32	1 - 25 min*
2	72	10 min
3	4	$\infty$

 \* 片段化时间，可根据样本提取质量进行调整，一般无降解的 gDNA，及其他质量较好的 DNA，片段化 时间设在 8 ~ 10 min 最适中。FFPE 样本根据 DNA 降解程度不同，片段化时间也有所不同，例如提取片段无降解，片段在 2 Kb 以上，按正常样本条件进行片段化；提取片段轻度降解，片段在 1 ~ 2 Kb，可在正常 片段化时间的基础上减少 1 ~ 2 min；提取片段中度降解，片段在 400 ~ 1000 bp，片段化时间推荐在 1 ~ 3 min。DNA 投入量低于 50 ng，片段化时间可比正常 DNA 的片段化时间减少 1 ~ 3 min。



1.2.3 反应液完全涡旋混匀后，将 0.2 mL PCR 管瞬时离心 10 sec，立刻置于 PCR 仪中，并启动反应程序。

**！ 注意：**将装有反应液的 PCR 管离心后，请注意不要产生气泡，以免影响 PCR 反应。

1.3 酶切产物的纯化推荐使用 xPure™ 分选磁珠或者 Agencourt® AMPure XP Beads，向反应产物中加入 1.5× 体积（45  $\mu$ L）磁珠进行纯化，具体步骤如下：

1.3.1 将磁珠置于室温平衡 30 min，使用前涡旋或者振荡混匀。

**！ 注意：**磁珠使用前，必须室温平衡 30 min，否则影响 DNA 的回收率及片段筛选。

1.3.2 程序结束后，加入 1.5× 体积（45  $\mu$ L）的磁珠至步骤 1.2.2 的反应液中，充分吸打混匀 30 sec。

1.3.3 室温孵育 5 min，将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液完全澄清后，用移液器吸弃上清。

1.3.4 在 PCR 管中，加入 200  $\mu$ L 80% 乙醇（现用现配），静置 30 sec（不用吹散磁珠），去除上清。

1.3.5 重复步骤 1.3.4 一次。

1.3.6 将含有磁珠的 PCR 管从磁力架上取下，瞬时离心 10 sec，放于磁力架上，用小量程的移液器小心去除残留的上清液，开盖室温晾干 0.5 ~ 1 min，至管壁无明显水珠即可。

**！ 注意：**干燥至磁珠界面无明显水珠，不可过分干燥，以免造成磁珠龟裂，DNA 回收率降低。

1.3.7 加入 26  $\mu$ L Nuclease-Free Water 或者 0.1× TE Buffer 至 0.2 mL PCR 管内并使用移液器轻轻吸打磁珠至充分悬浮。室温静置 5 min 后，将 0.2 mL PCR 管放置于磁力架上 2 min，使磁珠完全贴壁后，将上清转移至新的 0.2 mL PCR 管中。直接用于后续实验或 -20 °C 保存。

欣基（杭州）生物科技有限公司

WisGen BioSciences Co., Ltd

Add：浙江省杭州市钱塘区福城路 400 号 6 幢 8 层

Service：order@wisgen.cn Web：www.wisgen.cn

