

xLibPrep™ Ribo-out rRNA 去除试剂盒  
(Human/Mouse/Rat)

# 操作说明书

(Cat#NR001, Version1.0)

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. 试剂及样本准备 .....	5
2. RNA 探针杂交 .....	5
3. RNase H 消化 .....	6
4. DNase I 消化 .....	7
5. RNA 纯化 .....	8

## 产品组成

主货号：NR001 规格：24 rxns / 96 rxns

产品组分	24 rxns(NR001-024)	96 rxns(NR001-096)
● Hybridization Buffer	144 $\mu$ L	576 $\mu$ L
● rRNA Probe	48 $\mu$ L	192 $\mu$ L
● RNase H	24 $\mu$ L	96 $\mu$ L
○ DNase I Buffer	144 $\mu$ L	576 $\mu$ L
● DNase I	120 $\mu$ L	480 $\mu$ L

## 产品概述

xLibPrep™Ribo-out rRNA 去除试剂盒 (Human/Mouse/Rat)主要用于去除人、小鼠和大鼠的 Total RNA 中的细胞质 rRNA(包括细胞质 28SrRNA、18SrRNA、5.8SrRNA、5S rRNA)，以及线粒体 rRNA（包括 16SrRNA、12S rRNA），保留 mRNA 以及其它非编码 RNA。rRNA 去除后的 RNA 可用于 mRNA 以及非编码 RNA 的分析。

## 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 10 ng-1 $\mu$ g 且完整度良好的 Total RNA（RIN 值应≥7），以及部分降解的 RNA 样本（如 FFPE RNA）。

## 注意事项

**!** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 试剂盒中的酶溶液对于温度较为敏感，建议使用过程中应该置于冰上或在冰盒上进行操作，使用完及时放回冰箱保存，使用前弹混即可，请勿振荡。
2. 为保证 rRNA 去除效率，RNA 样品应不含盐离子(例如  $Mg^{2+}$ 或胍盐)和有机物(例如苯酚和乙醇)。
3. 为避免 DNA 污染，RNA 样品可用 DNase I 处理以去除 DNA。
4. 实验过程中请务必佩戴手套进行操作，并使用新鲜的 Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O 进行操作，避免污染。

## 实验前准备

### 1. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
WisGen#NR005	xLibPreP 通用型 RNA 建库试剂盒 (illumina)	
WisGen#NR006	xLibPreP 通用型 RNA 建库试剂盒 (MGI)	
*	Nuclease-Free Water	/

 \* 常规实验室供应商品牌即可

### 2. 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 RNA 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

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
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
Axygen# MCT-060-L-C	0.5 mL 低吸附离心管	可选择低吸附的 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 $\mu$ L 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	200 $\mu$ L 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	0.5 - 10 $\mu$ L 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品

⬆ \* 常规实验室供应商品牌即可

## 实验流程

### 1. 试剂及样本准备

#### 1.1 试剂准备

1.1.1 准备 Total RNA 样本，取 10 ng-1  $\mu$ g 的样本溶于 20 $\mu$ L Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O 中，冰上放置备用。

### 2. RNA 探针杂交

2.1 将步骤 1.1 处理好的样本按下表配制反应液，加入合组分，请务必在冰上进行操作。

组分	体积 ( $\mu$ L)
Hybridization Buffer	6
rRNA Probe	2
步骤 1 RNA	20
总体积	28

**!** 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。

2.2 按照下表设置 PCR 程序，热盖温度设置为 105  $^{\circ}$ C：

步骤	温度 ( $^{\circ}$ C)	时间 (min)
1	98	2
2	85	5
3	72	2
4	60	10

2.3 将步骤 2.1 的反应液完全涡旋后，瞬时离心 30 sec，立即置于 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。

2.4 反应程序结束后，立即拿出 PCR 管，冰上放置 3 min。

### 3. RNase H 消化

3.1 取出步骤 2.4 的反应液，按照下表各组分所示配制反应体系，请务必在冰上进行操作。

组分	体积 (μL)
RNase H	1
步骤 2.4 反应液	28
总体积	29

3.2 按照下表设置 PCR 程序，无热盖温度：

步骤	温度 (°C)	时间 (min)
1	37	20

3.3 将步骤 3.1 的反应液完全涡旋后，瞬时离心 30 sec，立即置于 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。



## 4. DNase I 消化

4.1 取出步骤 3.3 的反应液，按照下表各组分所示配制反应体系，请务必在冰上进行操作。

组分	体积 (μL)
DNase I Buffer	6
DNase I	5
Nuclease-free ddH <sub>2</sub> O	20
步骤 3.3 反应液	29
总体积	60

**!** 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。

4.2 按照下表设置 PCR 程序，无热盖温度：

步骤	温度 (°C)	时间 (min)
1	37	20

4.3 将步骤 4.1 的反应液完全涡旋后，瞬时离心 30 sec，立即置于 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。

## 5. RNA 纯化

**5.1 DNase I 消化产物的纯化**推荐使用 RNA 纯化磁珠 (WisGen#MB004)，向反应体系中加入  $2.2 \times$  体积 (132  $\mu$ L) 磁珠进行纯化，具体步骤如下：

5.1.1 将磁珠置于室温平衡 30 min，使用前涡旋或者振荡混匀。

5.1.2 DNase I 消化后，向步骤 4.3 的产物中加入  $2.2 \times$  体积 (132  $\mu$ L) 磁珠进行纯化，用移液器吹打或者涡旋混匀 30 sec。

5.1.3 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，用移液器小心吸弃上清，注意不要吸到磁珠。

5.1.4 将 PCR 管置于磁力架上，加入 200  $\mu$ L 80%乙醇（现用现配），静置 30sec（不用吹散磁珠），弃除上清。

5.1.5 重复步骤 5.1.4 一次。

5.1.6 将含有磁珠的 PCR 管从磁力架上取下，瞬时离心 10sec，置于磁力架上，用小量程的移液器小心将残留液去除，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即可，不可过分干燥，以免造成磁珠龟裂。

5.1.7 根据实验目的的需要，选择不同的处理方式：

**a：**若产物用于 RNA 文库构建，参照 xLibPreP 2XRNA 打断缓冲液 (WisGen#NR004) 说明书加入试剂，立即进行后续实验。

**b：**若纯化产物用于逆转录或其他相关测试，加入 10  $\mu$ L Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O，移液器吹打或者涡旋混匀 30 sec，室温放置 5 min，置于磁力架上放置 2 min，待溶液澄清后，取 8  $\mu$ L 上清至新的 PCR 管中。

5.1.8 样品可置于冰上继续进行 NGS 文库构建或其他分析应用(建议立即进行后续反应)，也可置于 -85°C ~ -65°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](mailto:order@wisgen.cn) Web : [www.wisgen.cn](http://www.wisgen.cn)

