

xLibPrep™ mRNA 富集试剂盒

操作说明书

(Cat#NR003, 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

产品组成

主货号：NR003 规格：24 rxns / 96 rxns

产品组分	24 rxns (NR003-024)	96 rxns (NR003-096)
● Tris Buffer	1.2 mL	4.8 mL
● Binding Buffer	1.2 mL	4.8 mL
○ Washing Buffer	9.6 mL	38.4 mL
○ mRNA 富集磁珠	1.2 mL	4.8 mL

产品概述

xLibPrep™ mRNA 富集试剂盒是偶联了 Oligo(dt)的磁性微球,适合于从纯化的 Total RNA 中分离获取 poly(A) RNA。根据 mRNA 3'末端含有 poly(A)尾巴结构,能够与磁珠上的 Oligo(dt)序列结合,从而得到高纯度的 mRNA 为原理进行纯化实验,该试剂盒能在 1h 内完成整个实验。

保存与运输条件

2 ~ 8 °C保存,冰袋运输。

适用范围

本产品适用将 Poly(A) RNA 从 10 ng-1μg 且完整度良好的 Total RNA(RIN 值应≥7)中分离出来,不完整或降解的 Total RNA 模板会导致部分 mRNA 信息的缺失。

注意事项

! 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 使用前将所有试剂从 2 ~ 8°C 中取出并置于室温下平衡 30 min，否则会影响试剂盒效率。
2. 吸取磁珠时应上下颠倒混匀，但不可剧烈震荡混匀。
3. mRNA 富集磁珠请勿放入 -20°C 保存，-20°C 低温会破坏磁珠，影响使用，若不慎放入，请重新购买。
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 ddH₂O 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 μ L 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	200 μ L 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	0.5 - 10 μ 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品牌即可

实验流程

1. 试剂及样本准备

1.1 将所有试剂从 2 ~ 8°C 中取出并平衡至室温。

1.2 准备 Total RNA 样本，取 10ng-1 μ g 的样本溶于 50 μ L Nuclease-free ddH₂O 中，冰上放置备用。

1.3 将 mRNA 富集磁珠上下颠倒混匀后，吸取 50 μ L 加入到总 RNA 样本中，使用移液器吹打混匀 10 次左右。

2. 实验步骤

2.1 按照下表设置 PCR 反应程序，热盖温度为 85°C：

步骤	温度 (°C)	时间 (min)
1	65	5
2	25	5

2.2 将步骤 1.3 的反应液放入 PCR 仪中，并运行反应程序。

2.3 反应结束后，取出反应液置于磁力架上约 3 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。

2.4 将样品从磁力架上取出，加入 200 μ L Washing Buffer，使用移液器吹打混匀，并再次置于磁力架上，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。

! 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。

2.5 将样品从磁力架上取出，加入 50 μ L Tris Buffer，使用移液器吹打混匀。

2.6 按照下表设置 PCR 反应程序，热盖温度为 90°C：

步骤	温度 (°C)	时间 (min)
1	80	2
2	25	Hold

- 2.7 将步骤 2.5 的反应液放入 PCR 仪中，并运行反应程序。
- 2.8 反应结束后，取出反应液并加入 50 μ L Binding Buffer，吹打混匀后室温孵育 5 min。
- 2.9 将样本置于磁力架上约 3 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。
- 2.10 将样品从磁力架上取出，加入 200 μ L Washing Buffer，使用移液器吹打混匀，并再次置于磁力架上，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。
- 2.11 根据实验目的的需要，选择不同的处理方式：
- 2.11.1 若产物用于 RNA 文库构建，参照 xLibPreP 2XRNA 打断缓冲液说明书加入试剂，立即进行后续实验。
- 2.11.2 若纯化产物用于逆转录或其他相关测试，加入 10 μ L Nuclease-free ddH₂O，使用移液器吹打混匀，80°C 2 min,立即置于磁力架上放置 5min，待溶液澄清后，取 8 μ L 上清至新的 PCR 管中。
- 2.12 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 Web：www.wisgen.cn

