

Globin mRNA Depletion Probe (Human)

产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|-------------------------------------|-----------|------|
| Globin mRNA Depletion Probe (Human) | 12806ES08 | 8 T |
| | 12806ES24 | 24 T |
| | 12806ES96 | 96 T |

产品描述

Globin mRNA Depletion Probe (Human)是针对人的珠蛋白 mRNA 设计的探针，能够有效去除成年个体、婴儿及胚胎来源的珠蛋白 mRNA，包括 HBA1/2, HBB, HBD, HBM, HBG1/2, HBE1, HBQ1, HBZ。该产品搭配 Hieff NGS® MaxUp rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat) (Yeasen#12257)使用，有效去除总 RNA 中的 rRNA 及 Globin mRNA 以保留其他信使 RNA (mRNA) 和非编码 RNA。该试剂盒对于完整和部分降解的总 RNA 均具有良好的 rRNA 去除效果。经 rRNA & Globin mRNA 去除所获得的 RNA 样本可用于高通量测序分析 mRNA 和非编码 RNA，可显著提高测序结果中有效数据比例，也可用于 cDNA 合成或其它下游应用。

适用范围

适用于人来源的 100 ng~1 µg 总 RNA 样品；适用于完整或部分降解 RNA 样品。

产品组分

| 组分编号和名称 | 12806ES08 | 12806ES24 | 12806ES96 |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| ● Globin Probe (Human) | 8 µL | 24 µL | 96 µL |

运输与保存方法

干冰运输，-20°C 存放，有效期一年。

注意事项

1. 请使用无 RNase 污染的耗材，并对实验区域定期进行清理，推荐使用 Thermo Fisher 公司的 RNAZap™ 高效核酸去除喷雾去除 RNA 酶污染。
2. RNA 样品应不含基因组 DNA 污染，若样品中有 gDNA 残留，应先进行 DNase I 消化并纯化后再用于本试剂盒。
3. RNA 样品最大投入体积为 10 µL，若样品体积较大，可先进行浓缩。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅用作科研用途！

自备材料

1. RNA 纯化磁珠：Hieff NGS® Cleaner (Cat#12602) 或其他等效产品。
2. qRT-PCR 质检 rRNA 去除效率：Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix(No Rox) (Cat#11201) 或其他等效产品；
3. 其他材料：无水乙醇、无菌超纯水、低吸附枪头、PCR 管、磁力架、PCR 仪等。

操作步骤

1. 探针杂交

- 1.1 将探针和杂交 Buffer 从 -20 °C 取出，解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。
- 1.2 准备 RNA 样品：根据投入量和样品浓度，计算 RNA 取样体积，用 Nuclease free H₂O 稀释至 10 µL。

1.3 按照表 1 于 200 μL PCR 管中配制 rRNA 去除反应体系。

表 1 探针杂交反应体系

| 名称 | 体积 (μL) |
|----------------------|------------------------------|
| Hybridization Buffer | 3 |
| Probe Mix(H/M/R) | 1 |
| Globin Probe(Human) | 1 |
| Total RNA | 10 (100 ng~1 μg) |
| Total | 15 |

1.4 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。

1.5 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，按照表 2 所示反应程序，进行探针杂交反应。

表 2 探针杂交反应程序

| 温度 | 时间 |
|-----------|---------|
| 热盖 105°C | On |
| 95°C | 2 min |
| 95°C-22°C | 0.1°C/s |
| 22°C | 5 min |
| 4°C | hold |

2. RNase H 消化

2.1 将 RNase H 消化试剂从-20 °C 取出，解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。按照表 3 所示，配制 RNase H 消化反应体系。

表 3 RNase H 消化反应体系

| 名称 | 体积 (μL) |
|----------------|----------------------|
| RNase H Buffer | 3 |
| RNase H | 2 |
| 上步产物 | 15 |
| Total | 20 |

注：RNase H Buffer 及 RNase H 需单独添加，若因样本量较多需配置 mix，请现配现用，否则会影响去除效果。

2.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。

2.3 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，设置反应程序：(热盖关) 37°C，30 min； 4°C，hold，进行 RNase H 消化反应。

3. DNase I 消化

3.1 将 DNase I 消化试剂从-20 °C 取出，解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。按照表 4 所示，配制 DNase I 消化反应体系。

表 4 DNase I 消化反应体系

| 名称 | 体积 (μL) |
|----------------|----------------------|
| DNase I Buffer | 27.5 |
| DNase I | 2.5 |
| 上一步产物 | 20 |
| Total | 50 |

3.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。

3.3 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，设置反应程序：(热盖关) 37°C，30min； 4°C，hold，进行 DNase I 消化反应。

4. RNA 纯化

4.1 准备工作：将 Hieff NGS® RNA Cleaner (Cat#12602) 磁珠由冰箱中取出，室温平衡至少 30 min。用 Nuclease free H₂O 配制 80%乙醇。

4.2 涡旋振荡或充分颠倒磁珠以保证充分混匀。

4.3 吸取 110 μL Hieff NGS® RNA Cleaner (2.2 \times , Beads:DNA=2.2:1) 至上一步产物中，移液器充分吹打混匀，室温孵育 5 min。

4.4 将 PCR 管置于磁力架中分离磁珠和液体，待溶液澄清后 (约 3 min)，小心移除上清。

4.5 保持 PCR 管始终置于磁力架中，加入 200 μ L Nuclease free H₂O 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec 后，小心移除上清。

4.6 重复步骤 4.5，总计漂洗两次。用 10 μ L 移液器吸干净残留液体。

4.7 保持 PCR 管始终置于磁力架中，室温下开盖干燥磁珠（5~10 min）。

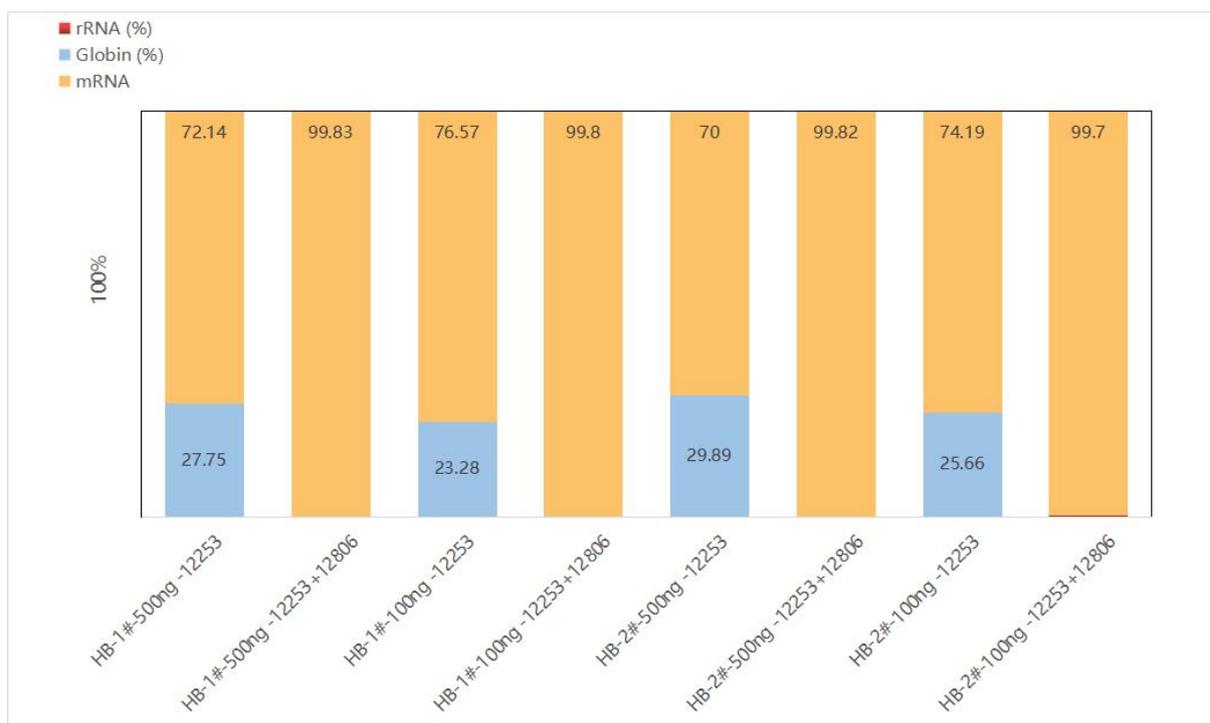
4.8 RNA 洗脱: 将 PCR 管从磁力架上取下，加入 11 μ L Nuclease free H₂O（或使用适合下游实验的相应体积 Nuclease free H₂O 或洗脱缓冲液），使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。

4.9 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架中静置，待溶液澄清后（约 3 min），小心移取 10 μ L 上清（可根据步骤 4.8 选择的实际洗脱体积进行相应调整）至新的 Nuclease free PCR 管中。

【注】洗脱后的样品请立即进行下游实验，或置于-80°C存放。

案例展示

Human Blood Total RNA 分别进行 rRNA 去除、rRNA&Globin 去除后建库测序，对比 Globin mRNA 含量。



相关产品

| 建库试剂盒 | 产品编号 | 规格 |
|---|--------------------|--------------|
| Hieff NGS® Ultima DNA Library Prep Kit for Illumina® | 12199ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® MaxUpII DNA Library Prep Kit for Illumina® | 12200ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® OnePot DNA Library Prep Kit for Illumina® | 12205ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® OnePotII DNA Library Prep Kit for Illumina® | 12204ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® Fast Tagment DNA Library Prep Kit for Illumina® | 12206/7ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® MaxUpII Dual-mode RNA Library Prep Kit | 12308ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® MaxUpII Dual-mode mRNA Library Prep Kit | 12309ES24/96 | 24/96 T |
| 文库构建磁珠 | 产品编号 | 规格 |
| Hieff NGS® Smarter DNA Clean beads (>50 bp) | 12600ES08/56 | 5/60 mL |
| Hieff NGS® DNA Selection Beads (Superior AMPure XP alternative) | 12601ES08/56 | 5/60 mL |
| Hieff NGS® RNA Cleaner | 12602ES08/56 | 5/60 mL |
| Hieff NGS® mRNA Isolation Master Kit | 12603ES24/96 | 24/96 T |
| 建库接头 | 产品编号 | 规格 |
| Hieff NGS® 96 Single Index Primer Kit for Illumina®, Set 1/2 | 12611/12612ES02 | 48×2 T |
| Hieff NGS® 384 Dual Index Primer Kit for Illumina®, Set 1/2 | 12412/12413ES02 | 96×2 T |
| Hieff NGS® Complete Adapter Kit for Illumina®, Set 1/2 | 12615/12616ES04/16 | 12×4/12×16 T |
| Hieff NGS® Complete Adapter Kit for Illumina®, Set 3/4 | 12617/12618ES04/16 | 12×4/12×16 T |
| Hieff NGS® Tagment Index Kit for Illumina®, (96 Index) | 12416ES96/384 | 96 T/384 T |
| 建库模块 | 产品编号 | 规格 |
| Hieff NGS® Fast-Pace DNA Fragmentation Reagent | 12609ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® Ultima DNA Ligation Module | 12604ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® Ultima Endprep Mix | 12605ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® Fast-Pace DNA Ligation Module | 12607ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® Fast-Pace End Repair/dA-Tailing Module | 12608ES24/96 | 24/96 T |
| 2×Ultima Amplification Mix | 12620ES24/96 | 24/96 T |
| 2×Super Canace®II High-Fidelity Mix | 12621ES03/08 | 24/96 T |
| Hieff NGS® Dual-Mode cDNA Synthesis Kit | 12250ES24/96 | 24/96 T |
| Hieff NGS® FFPE DNA Repair Reagent | 12606ES24/96 | 24/96 T |
| 文库定量 | 产品编号 | 规格 |
| Hieff NGS® Library Quantification Kit for Illumina®, qPCR Master Mix | 12302ES05 | 500 T |
| Hieff NGS® Library Quantification Kit for Illumina®, DNA Standard (1-6) | 12307ES09 | 6×96 μL |
| dsDNA HS Assay Kit for Qubit® | 12640ES60/76 | 100/500 T |
| 多重 PCR 定制咨询 | | |
| NGS 建库原料酶咨询 | | |