

## Hieff NGS<sup>®</sup> MaxUp rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat)

### MaxUp 核糖体 RNA 去除试剂盒(人/小鼠/大鼠)

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS <sup>®</sup> MaxUp rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat)	12253ES24	24 T
MaxUp 核糖体 RNA 去除试剂盒 (人/小鼠/大鼠)	12253ES96	96 T

#### 产品描述

Hieff NGS<sup>®</sup> MaxUp rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat) 利用 RNase H 消化法去除人、小鼠、大鼠总 RNA 中的核糖体 RNA 以保留信使 RNA (mRNA) 和其它非编码 RNA。该试剂盒对于完整和部分降解的总 RNA (如 FFPE RNA) 均具有良好的 rRNA 去除效果。经 rRNA 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、小鼠、大鼠来源的 100 ng~1 μg 总 RNA 样品; 适用于完整或部分降解 RNA (如 FFPE RNA) 样品。

#### 产品组分

组分编号和名称		12253ES24	12253ES96
12253-A		Hybridization Buffer	72 μL
12253-B		Probe Mix(H/M/R)	24 μL
12253-C		RNase H Buffer	72 μL
12253-D		RNase H	48 μL
12253-E		DNase I Buffer	660 μL
12253-F		DNase I	60 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<sup>™</sup> 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 11 μL, 若样品体积较大, 可先进行浓缩。

#### 自备材料

1. RNA 纯化磁珠: Hieff NGS<sup>®</sup> Cleaner (Cat#12602) 或其他等效产品。
2. qRT-PCR 质检 rRNA 去除效率: Hieff<sup>®</sup> 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 H<sub>2</sub>O 稀释至 11 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
Total RNA	11 (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

- 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 50°C；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 50°C；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<sup>®</sup> RNA Cleaner (Cat#12602) 磁珠由冰箱中取出，室温平衡至少 30 min。用 Nuclease free H<sub>2</sub>O 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<sup>®</sup> RNA Cleaner (2.2×, 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  $\mu$ L Nuclease free H<sub>2</sub>O 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  $\mu$ 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）。

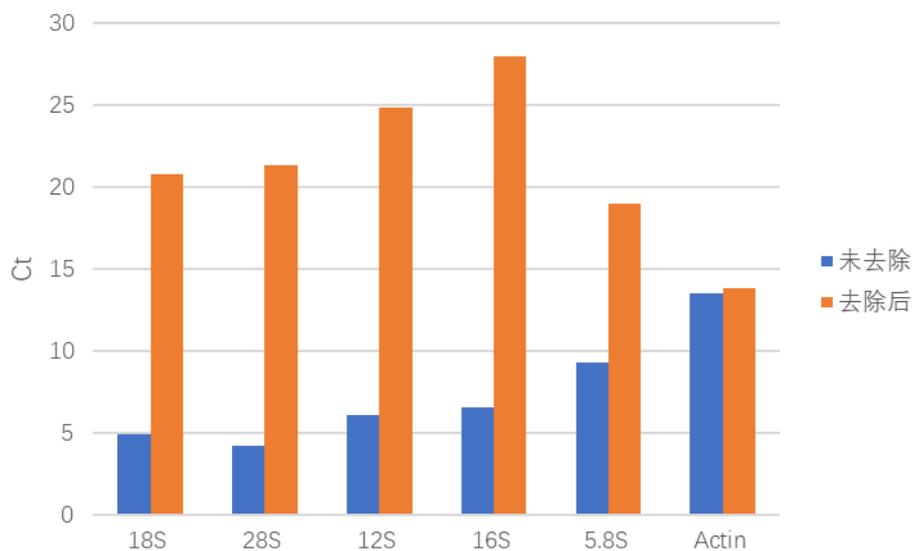
4.8 RNA 洗脱：将 PCR 管从磁力架上取下，加入 11  $\mu$ L Nuclease free H<sub>2</sub>O（或使用适合下游实验的相应体积 Nuclease free H<sub>2</sub>O 或洗脱缓冲液），使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。

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  $\mu$ 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

qPCR 验证：以 1  $\mu$ g 293T RNA 进行 rRNA 去除，利用 qPCR 对比去除前后 rRNA 基因和 mRNA 基因的表达量变化。



## 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®	12203ES24/96	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 mRNA Library Prep Kit for Illumina®	12300ES24/96	24/96 T
文库构建磁珠	产品编号	规格
Hieff NGS® cfDNA Clean Beads (100~200 bp)	12599ES08/56	5/60 mL
Hieff NGS® Smarter DNA Clean beads (50 bp 以上)	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	12613/12614ES02	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)	12610ES96	96 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
1×dsDNA HS Assay Kit for Qubit®	12642ES60/76	100/500 T
多重 PCR	产品编号	规格
Hieff® Multiplex PCR Kit	13279ES60/76	100/500 T
2×Hieff NGS® HG Multiplex PCR Master Mix 2×高 GC 多重 PCR 预混液	13283ES03/08/50/60/76	1/5×1/50/250/500 mL
<b>NGS 建库原料酶咨询</b>		