

Hieff NGS[®] 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 [®] 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[®] 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	288 µL
12253-B		Probe Mix(H/M/R)	24 µL	96 µL
12253-C		RNase H Buffer	72 µL	288 µL
12253-D		RNase H	48 µL	192 µL
12253-E		DNase I Buffer	660 µL	2 × 1320 µL
12253-F		DNase I	60 µL	240 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 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[®] 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 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[®] 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×, 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 μL Nuclease free H_2O 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 μL 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）。

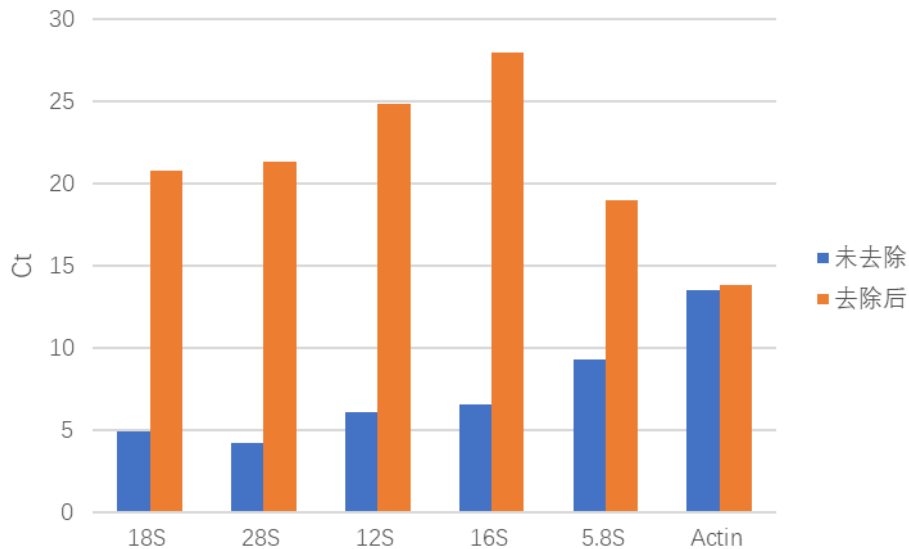
4.8 RNA 洗脱：将 PCR 管从磁力架上取下，加入 11 μL Nuclease free H_2O （或使用适合下游实验的相应体积 Nuclease free H_2O 或洗脱缓冲液），使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。

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 μL 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 $1\mu\text{g}$ 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
NGS 建库原料酶咨询		