

Hieff NGS[®] One-Step Globin mRNA Removal Kit (Human)

一步快速去除珠蛋白 mRNA 试剂盒（人）

Cat No. 12260

使用说明书

Product Manual



目 录

产品信息.....	1
产品描述.....	1
适用范围.....	1
产品组分.....	1
运输与保存方法.....	1
注意事项.....	1
使用方法.....	1

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS® One-Step Globin mRNA Removal Kit (Human) 一步快速去除珠蛋白 mRNA 试剂盒 (人)	12260ES08	8 T
	12260ES24	24 T
	12260ES96	96 T

产品描述

血液样本来源的 mRNA 中珠蛋白 mRNA 约占 30%-70%，占据了大量的 RNA 测序数据，因此血液样本 RNA 建库过程中珠蛋白 mRNA 的去除是提高测序数据信息量的有效方法。Hieff NGS® One-Step Globin mRNA Removal Kit (Cat#12260) 利用靶向技术在 cDNA 合成过程中高特异性地抑制总 RNA 中的珠蛋白 mRNA 的逆转录，而不影响其他 mRNA、非编码 RNA 以及环状 RNA 等非靶 RNA 的 cDNA 合成，从而在一链 cDNA 合成过程中高特异性去除珠蛋白 mRNA。本产品结合翌圣生物的 Hieff NGS® One-Step rRNA Removal Kit (Cat#12258/12259)，可以对人类血液样本来源 RNA 中的 rRNA 和珠蛋白 mRNA 进行快速靶向去除。这种靶向去除技术相较于传统的 RNase H 消化法具有耗时短 (4 min)、操作简单 (一步操作) 和非靶 RNA 保留完整等优点，极大简化了操作流程和提高了建库效率，可以与市面上各类一链 cDNA 合成试剂配套使用。该试剂盒对于完整和部分降解的总 RNA 均具有良好的珠蛋白 mRNA 去除效果。经珠蛋白 mRNA 去除所获得的 cDNA 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，也可用于其它 cDNA 下游应用。提供的试剂已经过严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了珠蛋白 mRNA 去除的稳定性和重复性。

适用范围

适用于全血 RNA 来源的 1 ng-1 µg 的总 RNA 样品。

产品组分

产品组分	12260ES08	12260ES24	12260ES96
One-Step Globin mRNA Removal Mix	8 µL	24 µL	96 µL

运输与保存方法

干冰运输，-20°C 存放。效期两年。

注意事项

一、关于操作

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 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。
3. 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。
4. 若样品体积较大，可先进行浓缩。
5. 本产品仅用作科研用途！

二、自备材料

1. qRT-PCR 质检珠蛋白 mRNA 去除效率：Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix (No Rox) (Cat#11201) 或其他等效产品。
2. 其他材料：无菌超纯水、低吸附枪头、PCR 管、PCR 仪等。

使用方法

一、操作流程

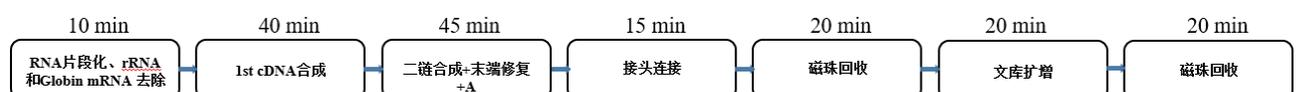


图1 使用快速去除 rRNA (Cat#12258)及 Globin mRNA (Cat#12260)试剂盒、RNA 建库试剂盒进行 RNA 建库流程

二、操作步骤方案

方案 1: 在逆转录体系中去除 rRNA 和 Globin mRNA。

使用翌圣生物的 Hifair® II 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Cat#11119) 进行本试剂盒 rRNA 去除效率测试。

1. 逆转录反应体系按下表进行 (20 μL 体系):

RNA 非片段化体系*		RNA 片段化体系**	
在 PCR 管中加入以下组份:		在 PCR 管中加入以下组份:	
Total RNA	1 ng-1 μg	Total RNA	1 ng-1 μg
Random Primers N6 (50 μM)	1 μL	Random Primers N6 (50 μM)	1 μL
One-Step rRNA Removal Mix (Cat#12258/12259)	1 μL	One-Step rRNA Removal Mix (Cat#12258/12259)	1 μL
One-Step Globin mRNA Removal Mix (Cat#12260)	1 μL	One-Step Globin mRNA Removal Mix (Cat#12260)	1 μL
RNase free H ₂ O	To 14 μL	5×Hifair® II Buffer	4 μL
混匀后瞬离, 按照下列反应程序进行反应:		RNase free H ₂ O	
75°C	1 min	To 18 μL	
65°C	1 min	混匀后瞬离, 按照下列反应程序进行反应:	
50°C	2 min	94°C (片段化温度和时间可根据需求自行调整)	7 min
4°C	Hold	75°C	1 min
在 PCR 管中加入以下组份:		65°C	1 min
上述反应体系	14 μL	50°C	2 min
5×Hifair® II Buffer	4 μL	4°C	Hold
Hifair® II Enzyme Mix	2 μL	在 PCR 管中加入以下组份:	
Total	20 μL	上述反应体系	18 μL
混匀后瞬离, 按照下列反应程序进行反应:		Hifair® II Enzyme Mix	2 μL
25°C	5 min	Total	20 μL
42°C	30 min	混匀后瞬离, 按照下列反应程序进行反应:	
85°C	5 min	25°C	5 min
		42°C	15 min
		85°C	5 min

【注】*: RNA 非片段化体系主要是为了保证 RNA 的完整性, 主要应用于 cDNA 库的制备、RT-qPCR, 低浓度 RNA 建库和三代测序建库等领域。

***: RNA 片段化体系主要是为了保证 RNA 在建库过程中的有效片段化, 主要应用于 RNA 二代测序。客户可根据实验需求自行选择。

2. qPCR 检测 rRNA 及 Globin mRNA 去除效果。

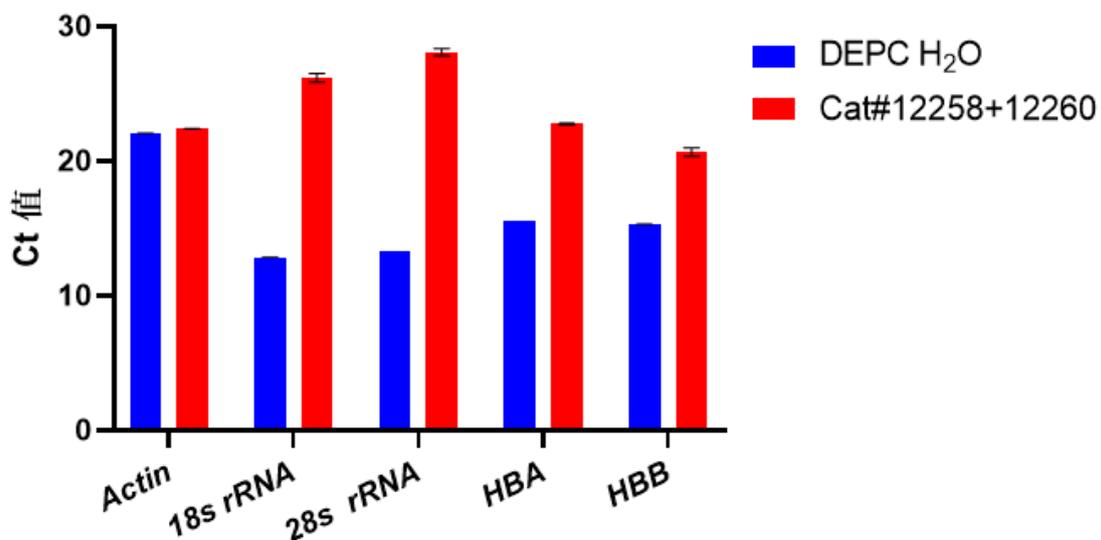


图 2 qPCR 验证 rRNA 及 Globin mRNA 一步法去除试剂盒的去除效果。DEPC H₂O: 未添加去除 rRNA 和 Globin mRNA 的探针进行 qPCR;

Cat#12258+12260: 在反应体系中同时使用本公司试剂盒 Cat#12258+Cat#12260 的探针去除 rRNA 和 Globin mRNA 后进行 qPCR。

方案 2: 在 RNA NGS 文库构建中去除 rRNA 和 Globin mRNA。

1. 使用翌圣生物的 Hieff NGS® Dual-mode RNA Library Prep Kit (Cat#12252 for Illumina, Cat#13332 for MGI)进行本试剂盒 rRNA 和 Globin mRNA 去除效率测试:

组分	体积
Total RNA	1 ng-1 µg
2×Frag/Prime Buffer	8.5 µL
One-Step rRNA Removal Mix (Cat#12258)	1 µL
One-Step Globin mRNA Removal Mix (Cat#12260)	1 µL
DEPC H ₂ O	to 17 µL

混匀后瞬离, 按照下列反应程序进行反应:

温度	时间
94°C (片段化温度和时间可根据需求自行调整)	5-7 min
75°C	1 min
65°C	1 min
50°C	2 min
4°C	Hold

反应结束后接下游一链合成体系。

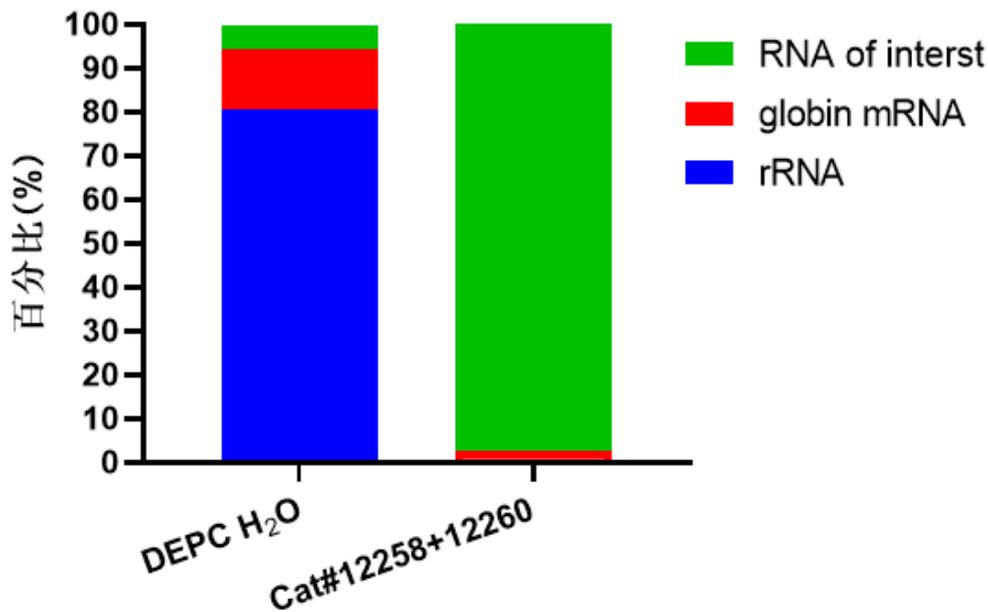


图 3 二代测序验证一步法快速去除 rRNA 和 Globin mRNA 试剂盒的去除效果。DEPC H₂O: 未使用去除 rRNA 和 Globin mRNA 的探针进行建库测序; Cat#12258+12260: 在反应体系中同时使用本公司试剂盒 Cat#12258+Cat#12260 的探针去除 rRNA 和 Globin mRNA 后进行建库测序

2. 使用 New England Biolabs 的 NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (Cat#E7760)联合本试剂盒进行 rRNA 去除方案:

组份	体积
Total RNA	1 ng-1 µg
First Strand Synthesis Reaction Buffer (5×)	4 µL
Random Primers	1 µL
One-Step rRNA Removal Mix (Cat#12258)	1 µL
One-Step Globin mRNA Removal Mix (Cat#12260)	1 µL
DEPC H ₂ O	to 10 µL

混匀后瞬离，按照下列反应程序进行反应：

温度	时间
94°C（片段化温度和时间可根据需求自行调整）	5-15 min
75°C	1 min
65°C	1 min
50°C	2 min
4°C	Hold

反应结束后接下游一链合成体系。

方案 3：在 mRNA NGS 文库构建中去除 Globin mRNA。

使用翌圣生物的 Hieff NGS® mRNA Isolation Master Kit mRNA (Cat#12603)进行本试剂盒 mRNA 的富集。

组份	体积
mRNA captured from total RNA	X*
2×Frag/Prime Buffer	8.5 μL
One-Step Globin mRNA Removal Mix (Cat#12260)	1 μL
DEPC H ₂ O	to 17 μL

吹打悬浮 oligo (dT)磁珠，按照下列反应程序进行反应：

温度	时间
94°C（片段化温度和时间可根据需求自行调整）	5-7 min
75°C	1 min
65°C	1 min
50°C	2 min
4°C	Hold

【注】：*从 100 ng-4 μg 总 RNA 中进行捕获得到的 mRNA

反应结束后接下游一链合成体系。

Good science

Good products

翌圣生物科技（上海）股份有限公司

服务电话:400-6111-883

咨询邮箱:marketing@yeasen.com

网 址:www.yeasen.com

地 址:上海市浦东新区国际医学园区天雄路166号1号楼402室

