

Hieff NGS[®] One-Step rRNA Removal Kit

(Human, 1-100 ng)

Cat No. 12259

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	2

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS® One-Step rRNA Removal Kit (Human, 1-100 ng) 一步快速去除核糖体 RNA 试剂盒 (人)	12259ES08	8 T
	12259ES24	24 T
	12259ES96	96 T

产品描述

Hieff NGS® One-Step rRNA Removal Kit (Human, 1-100 ng) 利用靶向技术在 cDNA 合成过程中高特异性地抑制人、小鼠、大鼠总 RNA 中的核糖体 RNA 的逆转录，而不影响信使 RNA (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核糖体 RNA。这种靶向去除技术相较于传统的 RNase H 消化法具有耗时短 (3 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。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 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 rRNA 去除的稳定性和重复性。

适用范围

适用于人、小鼠、大鼠来源的 1-100 ng 总 RNA 样品；适用于完整或部分降解 RNA (如 FFPE RNA) 样品。

产品组分

产品组份	12259ES08	12259ES24	12259ES96
One-Step rRNA 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. 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. 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. 本产品仅作科研用途！

二、自备材料

1. 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；
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

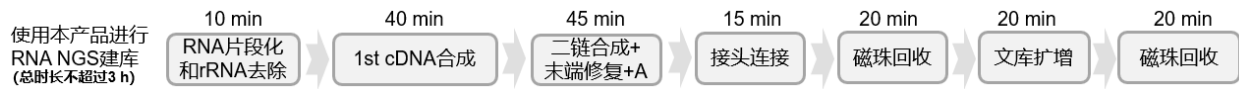


图2 使用快速去除核糖体 RNA 试剂盒+RNA 建库试剂盒进行 RNA 建库流程

二、操作步骤

方案 1：在逆转录体系中去除 rRNA。

1. 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，其他逆转录试剂盒也可以用于本测试。
2. 逆转录反应体系配制（20 μL 体系）

RNA 不片段化体系	
Total RNA	1-100 ng
Random Primers N6 (50 μM)	1 μL
One-Step rRNA Removal Mix	1 μL
RNase free ddH ₂ O	To 14 μL

混匀后瞬离，按照下列反应程序进行反应：

75°C	1 min
50°C	2 min
4°C	Hold

上述反应体系	14 μL
5×Hifair® II Buffer	4 μL
Hifair® II Enzyme Mix	2 μL
Total	20 μL

混匀后瞬离，按照下列反应程序进行反应：

25°C	5 min
42°C	30 min
85°C	5 min

RNA 片段化体系	
Total RNA	1-100 ng
Random Primers N6 (50 μM)	1 μL
One-Step rRNA Removal Mix	1 μL
5×Hifair® II Buffer	4 μL
RNase free ddH ₂ O	To 18 μL

混匀后瞬离，按照下列反应程序进行反应：

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

上述反应体系	18 μL
Hifair® II Enzyme Mix	2 μL
Total	20 μL

混匀后瞬离，按照下列反应程序进行反应：

25°C	5 min
42°C	15 min
85°C	5 min

3. qPCR 检测 rRNA 去除效果。

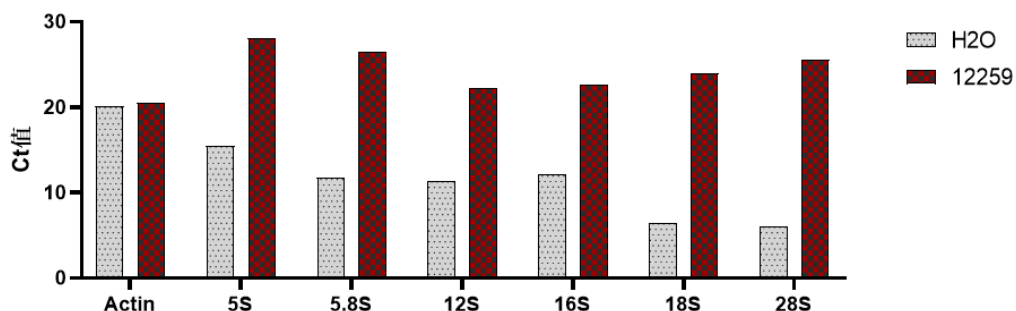


图3 qPCR 验证一步 rRNA 快速去除试剂盒的去除效果

方案 2：在 RNA NGS 文库构建中去除 rRNA。

1. 使用翌圣生物的 Hieff NGS® Dual-mode RNA Library Prep Kit (Cat#12252 for Illumina, 13333 for MGI)进行本试剂盒 rRNA 去除效率测试。

RNA 片段化	
组份	体积
Total RNA	1-100 ng
2×Frag/Prime Buffer	8.5 μL
One-Step rRNA Removal Mix	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 min
75°C	1 min
50°C	2 min
4°C	Hold

组份	体积
上述反应体系	17 μL
Strand Specificity Reagent	6 μL
1st Strand Enzyme Mix	2 μL
Total	25 μL

混匀后瞬离，按照下列反应程序进行反应：

温度	时间
25°C	10 min
42°C	15 min
70°C	15 min

接 Step 2 第二链 cDNA 的合成/末端修复/加 A

快速去除rRNA的建库测序数据与未去除的对比

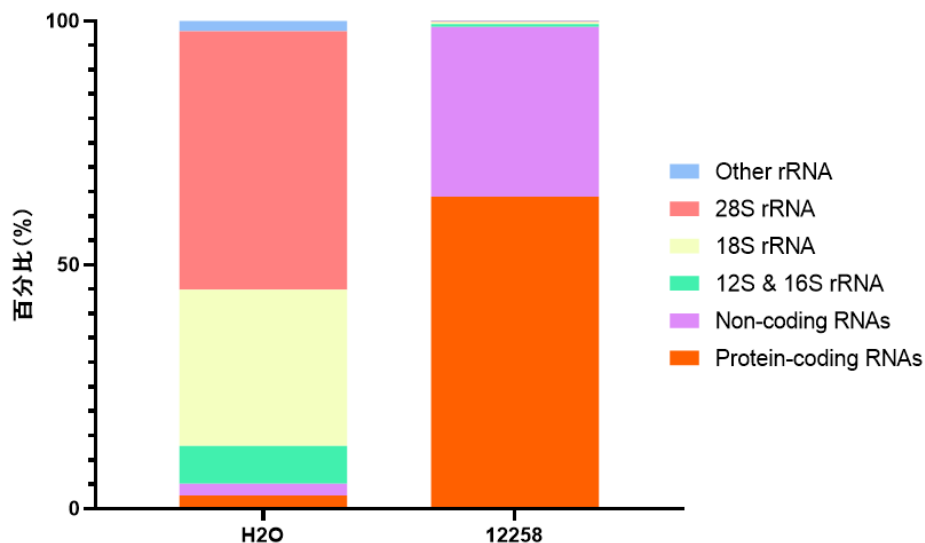


图 4 二代测序验证一步 rRNA 快速去除试剂盒的去除效果

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。

RNA 片段化	
组份	体积
Total RNA	1-100 ng
First Strand Synthesis Reaction Buffer (5×)	4 μL
Random Primers	1 μL
One-Step rRNA Removal Mix	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 min
75°C	1 min
50°C	2 min
4°C	Hold

接下游一链合成体系

3. 其他品牌 RNA 建库试剂盒请咨询！

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

