

# Hieff NGS® MagSP rRNA Removal Kit (Bacteria(G<sup>-</sup> and G<sup>+</sup>)) with purification beads

## 产品描述

Hieff NGS® MagSP rRNA Removal Kit (Bacteria(G<sup>-</sup> and G<sup>+</sup>)) with purification beads 是利用链霉亲和素标记的磁珠去除细菌 (G<sup>-</sup> 和 G<sup>+</sup>) 来源总 RNA 中的核糖体 RNA 以保留信使 RNA (mRNA) 和其他非编码 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 去除所获得的 RNA 样本可用于高通量测序分析的 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 合成及其它下游应用。






## 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS® MagSP rRNA Removal Kit (Bacteria(G <sup>-</sup> and G <sup>+</sup> )) with purification beads 磁珠法 rRNA 去除 (细菌通用 (G <sup>-</sup> 和 G <sup>+</sup> ))	12264ES04	4 T
	12264ES24	24 T
	12264ES96	96 T

## 适用范围

适用于细菌 (G<sup>-</sup> 和 G<sup>+</sup>) 来源的 10 ng~1 μg 总 RNA 样品 (若实验时去除单一物种 rRNA, 总 RNA 量不能超过 200 ng, 推荐使用 100-200 ng)。

## 产品组分

组分编号和名称			12264ES04	12264ES24	12264ES96
BOX I	 12264-A	PM, Probe Mix	13.5 μL	80 μL	317 μL
BOX II	 12264-B	HB, Hybridization buffer	25 μL	150 μL	600 μL
	 12264-C	DB, Depletion buffer	800 μL	4.6 mL	18.5 mL
	 12264-D	SMB, Streptavidin-coated magnetic beads	176 μL	1056 μL	4.23 mL
	 12264-E	PB, Purification beads	795 μL	4.75 mL	19 mL

## 储存条件

试剂盒 BOXI (Probe Mix) -25~-15°C保存, BOXII2~8°C保存, 有效期 1 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. 使用前, 磁珠需提前平衡至室温。
4. RNA 投入量为 10 ng- 1000 ng, 但当实验时去除单一物种 rRNA, 总 RNA 量不能超过 200 ng, 推荐使用 100-200 ng。
5. 在操作过程中, 避免 EP 管或 PCR 管管盖开封 (孵育过程中) 或长时间处于室温状态。

6.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

7.本产品仅用作科研用途！

## 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、Streptavidin-coated magnetic beads 和杂交 Buffer 从-20°C 取出，解冻后颠倒混匀，探针置于冰上放置，其余试剂平衡至室温备用。
- 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 12 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	5
Probe Mix	3
Total RNA*	12 (10 ng~1 μg)
Total	20

\*注：若为单一物种，Total RNA 总量不能超过 200 ng，推荐使用 100-200 ng。

- 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
68°C	10 min
68°C-37°C	0.1°C/s
37°C*	2 min

\*注：采用梯度退火之后，需要尽快进入下一操作步骤，严禁 PCR 程序中出现 4°C hold，否则会影响去除效果。

### 2. 链酶亲和素磁珠准备

- 2.1 低速涡旋振荡链酶亲和素磁珠使磁珠重悬。
- 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 吸取 40 μL Streptavidin-coated magnetic beads 于新的 PCR 管中，将 PCR 管置于磁力架上，静置 2 min；。
- 2.4 待溶液澄清后，去掉所有上清液。
- 2.5 向 PCR 管中加入 80 μL Depletion buffer 后，用移液器吹打 10 次混匀。
- 2.6 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2 min，待溶液澄清后，去上清。
- 2.7 向 PCR 管中加入 80 μL Depletion buffer 后，用移液器吹打 10 次混匀。

### 3. rRNA 去除

- 3.1 瞬离将步骤 1 中杂交样品离心至管底。

3.2 将步骤 2 中的链酶亲和素磁珠加入步骤 1 的样品中，用移液器吹打 10 次混匀后，置于 PCR 仪中，按照表 3 所示反应程序，进行探针捕获。

表 3 rRNA 去除反应程序

温度	时间
热盖 105°C	On
37°C	15 min
50°C	5 min
*立即进入下一步骤	

**\*注：去除反应程序完成后，需要尽快进入下一操作步骤，严禁 PCR 程序中出现 4°C hold，否则会影响去除效果。**

3.3 瞬离将反应液离心至管底。

3.4 将样品管置于磁力架上，静置 2 min。

3.5 待溶液澄清后，小心转移上清至新的 PCR 管中。

3.6 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2 min，待溶液澄清后，小心转移上清至新的 PCR 管中（建议）。

#### 4. RNA 纯化

4.1 准备工作：将 Purification beads 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 180 μL Purification beads 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<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 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<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 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。**