

## Hieff NGS® MagSP rRNA Removal Kit (Oyster) with purification beads

### 产品描述

Hieff NGS® MagSP rRNA Removal Kit (Oyster) with purification beads 是利用链霉亲和素标记的磁珠去除牡蛎来源总 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 (Oyster) with purification beads 磁珠法核糖体 rRNA 去除 (牡蛎)	12275ES04	4 T
	12275ES24	24 T
	12275ES96	96 T

### 适用范围

适用于牡蛎来源的 10 ng~1 µg 总 RNA 样品。

### 产品组分

组分编号和名称			12275ES04	12275ES24	12275ES96
BOX I	 12275-A	PM, Probe Mix	13.5 µL	80 µL	317 µL
BOX II	 12275-B	HB, Hybridization buffer	25 µL	150 µL	600 µL
	 12275-C	DB, Depletion buffer	800 µL	4.6 mL	18.5 mL
	 12275-D	SMB, Streptavidin-coated magnetic beads	176 µL	1056 µL	4.23 mL
	 12275-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。
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

- 1.4 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬间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，瞬间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 瞬间将步骤 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。**