

**Hieff NGS® MaxUp rRNA Depletion Kit (Plant)****MaxUp rRNA 去除试剂盒（植物）****产品信息**

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS® MaxUp rRNA Depletion Kit (Plant)	12254ES24	24 T
MaxUp rRNA 去除试剂盒（植物）	12254ES96	96 T

**产品描述**

Hieff NGS® MaxUp rRNA Depletion Kit (Plant)利用 RNase H 消化法去除植物来源总 RNA 中的核糖体 RNA（包括细胞质 18S、25S rRNA，线粒体 18S、26S rRNA，叶绿体 16S、23S rRNA）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 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**

适用于多种植物来源的 100 ng~1 µg 总 RNA 样品；适用于完整或部分降解 RNA 样品。

**产品组分**

组分编号和名称			12254ES24	12254ES96
12254-A	●	Hybridization Buffer	72 µL	288 µL
12254-B	●	Probe Mix (Plant)	72µL	288 µL
12254-C	●	RNase H Buffer	72 µL	288 µL
12254-D	●	RNase H	48 µL	192 µL
12254-E	○	DNase I Buffer	660 µL	2×1320 µL
12254-F	○	DNase I	60 µL	240 µL

**运输与保存方法**

干冰运输，-20 °C 存放。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 10 µL，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！

**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 H<sub>2</sub>O 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 (Plant)	3
Total RNA	9 (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
上一步产物	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，30 min；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 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 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<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 4.7 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

1) 15 种不同的植物样本，投入 1μg 进行 RNA 建库测试，rRNA 的残留率如图 1 所示，rRNA 残留率都在 2%以内。

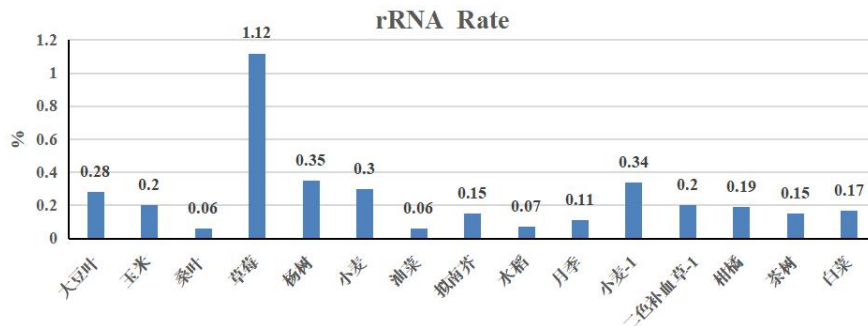


图 1 不同类型植物样本，rRNA 的残留率检测。

2) 不同客户返样的植物样本，投入 1μg 进行 RNA 建库测试，rRNA 的残留率如图 2 所示，rRNA 残留率都在 2%以内。

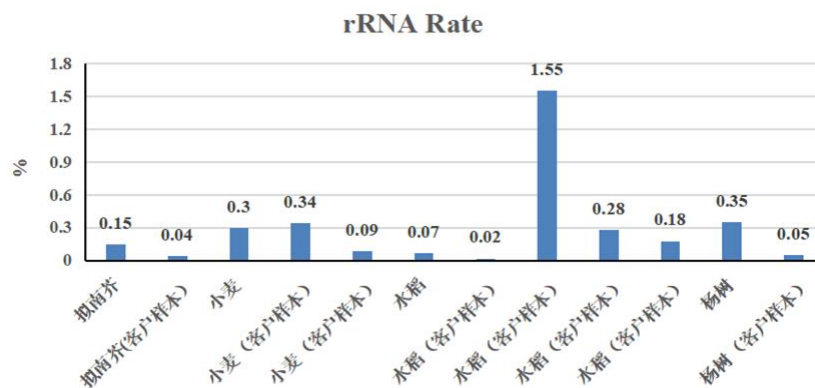


图 2 不同客户返样植物样本，rRNA 的残留率检测。

## 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® Ultima Dual-mode RNA Library Prep Kit	12308ES24/96	24/96 T
Hieff NGS® Ultima Dual-mode mRNA Library Prep Kit	12309ES24/96	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
<b>NGS 建库原料酶咨询</b>		