天净沙系列

CAT#:240732

干冰运输，-20℃保存

天净沙

植物 rRNA 删除试剂盒

Plant rRNA Depletion Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试剂盒利用核糖核酸酶 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。本产品有以下特点：

1. 植物样本覆盖度高，rRNA 残留率低。
2. 核糖核酸酶 H 酶法核糖体去除，去除效率高。
3. 兼容性好：可承接多数 total RNA 建库试剂盒。
4. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用五孔盒包装

成分	编号	规格	包装
杂交缓冲液	240732a	72 μL	0.5 mL 本色管
植物探针混合液	240732b	72 μL	0.5 mL 棕色管
核糖核酸酶 H 缓冲液	240732c	72 μL	0.5 mL 本色管
核糖核酸酶 H	240732d	48 μL	0.5 mL 本色管
脱氧核糖核酸酶 I 缓冲液	240732e	660 μL	1 mL 本色管
脱氧核糖核酸酶 I	240732f	60 μL	0.5 mL 本色管
使用手册	240732sc	1 份	无

运输及保存

干冰运输，-20℃保存，保存期限为一年。

自备试剂

RNA 纯化磁珠，无核酶水，无水乙醇等。

使用方法

一、探针杂交

1. 将探针混合液和杂交缓冲液从-20℃取出，解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。
2. 准备 RNA 样品：根据投入量和样品浓度，计算 RNA 取样体积，用无核酶水稀释至 11 μL。
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

试剂名称	**体积（μL）**
杂交缓冲液	3 μL
植物探针混合液	3 μL
植物总 RNA（100 ng-1 μg）	9 μL

总量	15 μL

4. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。

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℃	On
95℃	2 min
95℃-22℃	0.1 ℃/s
22℃	5 min
4℃	Hold

二、核糖核酸酶 H 消化

6. 将核糖核酸酶 H 消化试剂从-20℃取出，解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。按照表 3 所示，配制核糖核酸酶 H 消化反应体系。

表 3 核糖核酸酶 H 消化反应体系

试剂名称	体积（μL）
核糖核酸酶 H 缓冲液	3 μL
核糖核酸酶 H	2 μL
上一步产物	15 μL
总量	20 μL

7. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。

8. 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，设置反应程序：热盖 50℃，37℃，30 min；4℃，hold，进行核糖核酸酶 H 消化反应。

三、脱氧核糖核酸酶 I 消化

9. 将脱氧核糖核酸酶 I 消化试剂从-20℃取出，解冻后颠倒混匀，置于冰上备用。按照表 4 所示，配制脱氧核糖核酸酶 I 消化反应体系。

表 4 脱氧核糖核酸酶 I 消化反应体系

试剂名称	体积（μL）
脱氧核糖核酸酶 I 缓冲液	27.5 μL
脱氧核糖核酸酶 I	2.5 μL
上一步产物	20 μL
总量	50 μL

	10. 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬离将反应液离心至管底。 11. 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中，设置反应程序：热盖 50℃，37℃，30 min；4℃，hold，进行脱氧核糖核酸酶 I 消化反应。 **四、RNA 的纯化** 12. 准备工作：将 RNA 纯化磁珠由冰箱中取出，室温平衡至少 30 min。用无核酶水配制 80%乙醇。 13. 涡旋振荡或充分颠倒磁珠以保证充分混匀。 14. 吸取 110 μL RNA 纯化磁珠至上一步产物中，移液器充分吹打混匀，室温孵育 5 min。 15. 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。 16. 保持 PCR 管始终置于磁力架中，加入 200 μL 无核酶水新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec 后，小心移除上清。 17. 重复步骤 16，总计漂洗两次。用 10 μL 移液器吸干净残留液体。 18. 保持 PCR 管始终置于磁力架中，室温下开盖干燥磁珠 (5-10 min)。 19. RNA 洗脱：将 PCR 管从磁力架上取下，加入 11 μL 无核酶水（或使用适合下游实验的相应体积无核酶水或洗脱缓冲液），使用移液器轻轻吹打至充分混匀，室温静置 5 min。 20. 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 19 选择的实际洗脱体积进行相应调整）至新的无核酶 PCR 管中。 **五、注意事项** 21. 洗脱后的样品请立即进行下游实验，或置于-80℃存放。 22. 请使用无 RNase 污染的耗材，并对实验区域定期进行清理。 23. RNA 样品应不含基因组 DNA 污染。 24. 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。
关联产品	人 rRNA 删除试剂盒