

rRNA Depletion Kit (Prevalent Species)

rRNA去除剂（高频物种）

货号/规格

KR005-A (6 rxns) ; KR005-B (24 rxns) ; KR005-C (96 rxns)

产品简述

rRNA Depletion Kit (Prevalent Species) 适用于从人、大鼠、小鼠等高频物种的总 RNA 中高效去除核糖体 RNA (包括 5S、5.8S、18S、28S rRNA, 12S、16S rRNA 及 45S rRNA)。试剂盒通过 rRNA 与特异性探针杂交、RNase H 消化、DNase I 消化等步骤, 保留 mRNA 及其他非编码 RNA (如 lncRNA)。本试剂盒兼容完整或部分降解的 RNA 样本, 起始总 RNA 量为 0.01-1 μg 。去除 rRNA 后的产物可直接用于 RNA 文库构建或逆转录等下游实验。

储存条件

-20°C。避免反复冻融, 建议分装保存。

组成成分

| 组分 | KR005-A | KR005-B | KR005-C |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|
| rRNA Probe PS | 18 μl | 72 μl | 288 μl |
| Probe Buffer | 18 μl | 72 μl | 288 μl |
| RNase H Buffer | 18 μl | 72 μl | 288 μl |
| RNase H | 12 μl | 48 μl | 192 μl |
| DNase I Buffer | 174 μl | 696 μl | 696 $\mu\text{l} \times 4$ |
| DNase I | 6 μl | 24 μl | 96 μl |
| Nuclease-free ddH ₂ O | 1 ml | 1 ml | 1 ml $\times 4$ |

适用范围

适用于人、大鼠、小鼠、中国仓鼠、恒河猴、食蟹猴等高频物种总 RNA 中的 rRNA 去除。起始总 RNA 量: 0.01-1 μg (建议用于 RNA-Seq 时 $\geq 100 \text{ ng}$)。

准备工作及注意事项

自备材料:

RNA 纯化磁珠 (如 GDSBio #NC1021 GDSPure RNA Clean Beads)

80% 乙醇 (用 Nuclease-free ddH₂O 新鲜配制)

Nuclease-free PCR 管、带滤芯枪头

PCR 仪、磁力架、Agilent 2100 或等效 QC 设备

样品准备:

RNA 样品应不含盐离子 (如 Mg²⁺、胍盐) 或有机物 (苯酚、乙醇), 否则需重新纯化。

为保证去除效率, 建议使用 DNase I 处理去除 DNA 污染。

将总 RNA 用 Nuclease-free ddH₂O 稀释至 9 μL , 请勿长时间冰上放置。

若初始 RNA 体积 >9 μL , 可通过冻干、乙醇沉淀或磁珠纯化浓缩。

磁珠纯化注意事项:

磁珠使用前需平衡至室温, 涡旋充分混匀。

漂洗时使用新鲜配制的 80% 乙醇, 两次漂洗后尽量吸尽上清。

干燥磁珠至表面由光亮变为磨砂质感 (无光泽), 避免过度干燥 (龟裂)。

操作注意事项:

全程佩戴手套, 使用带滤芯枪头, 避免 RNase 污染。

酶类组分使用前短暂离心, 置于冰上操作。

所有试剂使用后应立即盖紧盖子。

操作步骤

1. rRNA 与探针杂交

1.1 在 Nuclease-free PCR 管中, 用 Nuclease-free ddH₂O 将 0.01-1 μg 总 RNA 稀释至 9 μl , 冰上放置。

1.2 在冰上配制杂交反应液:

| 试剂 | 体积 |
|---------------|------------------|
| rRNA Probe PS | 3 μl |
| Probe Buffer | 3 μl |
| Total RNA | 9 μl |
| Total | 15 μl |

1.3 轻轻吹打 10 次混匀, 短暂离心收集至管底。

1.4 将 PCR 管置于 PCR 仪中运行:

| 温度 | 时间/速率 |
|---------|----------------|
| 95°C | 2 min |
| 95-37°C | 0.1°C/sec (降温) |
| 37°C | 5 min |
| 4°C | ∞ |

1.5 反应结束后立即取出, 瞬时离心, 置于冰上。

2. RNase H消化

2.1 在冰上配制以下反应液:

| 试剂 | 体积 |
|-----------------------|------------|
| <i>RNase H Buffer</i> | 3 μ l |
| <i>RNase H</i> | 2 μ l |
| 上一步产物 | 15 μ l |
| <i>Total</i> | 20 μ l |

2.2 吹打 10 次混匀, 短暂离心。

2.3 置于 PCR 仪中运行反应:

| 温度 | 时间 |
|------|----------|
| 50°C | 15 min |
| 4°C | ∞ |

2.4 瞬时离心, 置于冰上。

3. DNase I 消化

3.1 在冰上配制:

| 试剂 | 体积 |
|-----------------------|------------|
| <i>DNase I Buffer</i> | 29 μ l |
| <i>DNase I</i> | 1 μ l |
| 上一步产物 | 20 μ l |
| <i>Total</i> | 50 μ l |

3.2 吹打 10 次混匀。

3.3 置于 PCR 仪中运行反应:

| 温度 | 时间 |
|------|----------|
| 37°C | 10 min |
| 4°C | ∞ |

3.4 瞬时离心, 置于冰上。

4. RNA 纯化

推荐使用 GDSBio #NC1021或等效 RNA 纯化磁珠 (按 2.2X 体积使用)。

4.1 涡旋混匀 RNA 纯化磁珠, 吸取 110 μ l 加入上述 50 μ l 样品中, 吹打 10 次混匀。

4.2 冰上静置 15 min。

4.3 置于磁力架上, 待溶液澄清 (约 5 min), 小心移除上清。

4.4 保持样品在磁力架上, 加入 200 μ l 新鲜配制的 80% 乙醇, 室温孵育 30 sec, 移除上清。

4.5 重复乙醇漂洗一次, 尽量吸尽残留液体。

4.6 室温开盖干燥磁珠 5-10 min (磁珠表面变磨砂状, 无龟裂)。

4.7 洗脱:

若用于逆转录: 取下样品管, 加入 20 μ l *Nuclease-free ddH₂O*, 吹打 6 次混匀, 室温静置 2 min。置于磁力架上澄清后, 转移 18 μ l 上清至新管, -80°C 保存或立即使用。

若用于 RNA 文库构建 (如 GDSBio #KR001 *Universal RNA Library Prep Kit*): 取下样品管, 加入 18 μ l *Frag/Prime Buffer 2*, 吹打 6 次混匀, 室温静置 2 min。置于磁力架上澄清后, 转移 16 μ l 上清至新管, 直接进行文库构建。

注意事项

1. 本试剂盒仅适用于高频物种 (人、大鼠、小鼠等)。其他物种的适用性请咨询。
2. 为保证去除效率, RNA 样品应纯净无污染, 建议使用 *Agilent 2100* 评估完整性 (*RIN* ≥ 7 为佳)。
3. 去除 *rRNA* 后的 RNA 浓度较低, 建议立即进行下游实验; 如需保存, 请置于 -80°C 并避免反复冻融。
4. 若同时处理多个样品, 可将 *rRNA Probe* 与 *Probe Buffer* 预先混合后分装。
5. 如需同时去除多个物种的 *rRNA*, 可按以下示例调整杂交体系 (总 RNA 量相应减少):

| 试剂 | 体积 |
|-------------------------------|------------|
| <i>rRNA Probe PS</i> | 3 μ l |
| <i>rRNA Probe</i> (其他物种, 如细菌) | 3 μ l |
| <i>Probe Buffer</i> | 3 μ l |
| <i>Total RNA</i> | 6 μ l |
| <i>Total</i> | 15 μ l |

其余步骤不变。

本品仅供科学研究使用。