AccuNext RNase H-based rRNA 去除试剂盒（人/小鼠/大鼠）

AccuNext RNase H-based rRNA Depletion Kit (Human / Mouse / Rat)

Code No. AG12718

包装量：	4 rxns
保存温度：	−20℃ 保存

➢ 产品概述

本产品是基于 RNase H 法去除人、小鼠和大鼠来源的 Total RNA 中核糖体 RNA（ribosomal RNA, rRNA）的试剂盒，能有效去除 10 ng ~ 1 μg Total RNA 中的细胞质 rRNA（包括 5S rRNA、5.8S rRNA、18S rRNA和 28S rRNA）和线粒体 rRNA（12S rRNA 和 16S rRNA），对高质量 RNA 与低质量 RNA 样本（如部分降解的 FFPE 样本）均能获得较好的去除效果。通过本产品获得的 RNA 可用于 mRNA 及非编码 RNA（lncRNA）的分析，如可搭配本公司产品 *AccuNext* 链特异性 RNA 文库制备试剂盒（Illumina）（Code No. AG12503 / AG12504）构建二代测序 RNA 文库。

➢ 保存及运输

保存温度：−20℃ 保存

运输温度：干冰运输或−20℃ 冰袋运输

➢ 产品组成

10X Hybridization Buffer	6 μl
rRNA Probe Mix (H / M / R)	12 μl
RNase H	8 μl
RNase H Buffer	12 μl
DNase I	20 μl
DNase I Buffer	20 μl
Nuclease free water	1 ml

注：本产品中不含有纯化磁珠，需要自备。本公司产品 *MagSpherix* DNA 磁珠（Code No. AG12546 / AG12547 / AG12548）已经过验证，可搭配使用。

➢ 实验操作

1、探针杂交：按照下表在冰上配制反应液：

组分名称	反应体系
10X Hybridization Buffer	1.5 μl
rRNA Probe Mix (H / M / R)	3 μl
Total RNA（10 ng~1 μg ）	−
Nuclease free water	up to 15 μl

按照以下程序进行杂交反应，反应结束后立即放在冰上备用：

温度	时间
95℃	2 min
95℃~22℃ 梯度降温	0.1℃ / sec
22℃	2 min

2、RNase H 消化：按照下表在冰上配制反应液：

组分名称	反应体系
上述杂交反应液	15 μl
RNase H	2 μl
RNase H Buffer	3 μl

按照下表进行反应，反应结束后立即放在冰上备用：

温度	时间
37℃	30 min
4℃	Hold

3、DNase I 消化：按照下表在冰上配制反应液：

组分名称	反应体系
上述 RNase H 消化产物	20 μl
DNase I	5 μl
DNase I Buffer	5 μl
Nuclease free water	20 μl

按照下表进行反应：

温度	时间
37℃	30 min
4℃	Hold

反应结束后，产物可短暂保存于-80℃，为避免 RNA 降解，尽快进行 RNA 纯化。

4、RNA 纯化

本产品中不含有 RNA 纯化磁珠，推荐使用 1.8X 磁珠比例进行纯化，以下步骤是以 *MagSpherix* DNA 磁珠（Code No. AG12546）为例。若使用其他磁珠，建议摸索比例。

① 加入 90 μl *MagSpherix* DNA Beads 于 50 μl 产物中（磁珠：样品的比例为1.8：1），涡旋混匀 5 ~ 10 sec 或使用移液器轻柔吸打混匀 10 次，充分混匀后，短暂离心，室温静置孵育 5 min。

② 将 PCR 管置于磁力架上，待溶液澄清后（约 2 ~ 5 min），小心移除上清（勿吸到磁珠）。

③ 保持 PCR 管始终处于磁力架上，加入 200 μl 80% 乙醇漂洗，室温孵育 30 sec，小心移除上清。

④ 重复步骤 ③ 一次。

⑤ 保持 PCR 管始终置于磁力架上，开盖干燥磁珠 3 ~ 5 min 至无乙醇残留。

(注意：无乙醇残留时，磁珠表面无光泽；如果乙醇未干燥完全，可能会影响 RNA 的洗脱效率及影响下游实验。但注意不要过分干燥磁珠，避免磁珠表面开裂，降低 RNA 洗脱效率。)

⑥ 磁珠晾干后，将 PCR 管从磁力架上取下，加入 11 μl Nuclease free water 覆盖磁珠（可根据后续实验调整 Nuclease free water 加入量），使用移液器吹打 10 次充分混匀磁珠，室温孵育 5 min（如果磁珠干燥开裂，适当延长孵育时间）。

⑦ 将 PCR 管短暂离心，置于磁力架上，直到溶液澄清（2 ~ 5 min)。

⑧ 小心吸取 10 μl（根据步骤 ⑥ Nuclease free water 加入量调整）上清转移到新的 PCR 管中（勿吸到磁珠），

⑨ RNA 保存于 -80℃ 或者立即进行下游实验。

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.