



Ribomoval® rRNA Depletion Kit (Plant)

产品简介

Ribomoval® rRNA Depletion Kit (Plant) 采用 RNase H 消化法去除植物根、种子和叶片 Total RNA 中的核糖体 RNA (包括 25S、18S、5S 和线粒体 rRNA 26S、18S; 叶绿体 rRNA 23S、16S), 保留 mRNA 和其他非编码 RNA 信息 (lncRNA、circRNA 等)。本试剂盒对于完整和部分降解的 RNA 均有良好的 rRNA 去除效果, 经 rRNA 去除所获得的 RNA 可用于 mRNA 和非编码 RNA 的高通量测序分析, 能显著提高测序结果中有效数据比例。

适用范围

适用于多种植物来源的 0.1~2 µg Total RNA 样本, 针对不同的组织部位具有良好的兼容性。

产品组分

组分名称	S0201 (12 rxns)	S0202 (24 rxns)	S0203 (48 rxns)	S0204 (96 rxns)
● Probe Buffer	36 µL	72 µL	144 µL	288 µL
● Probe Mix (Plant)	24 µL	48 µL	96 µL	192 µL
● RNase H Buffer	48 µL	96 µL	192 µL	384 µL
● RNase H	12 µL	24 µL	48 µL	96 µL
● DNase I Buffer	60 µL	120 µL	240 µL	480 µL
● DNase I	12 µL	24 µL	48 µL	96 µL

运输与保存

干冰运输, -30°C~ -15°C 保存, 有效期一年。

自备材料

RNA 纯化磁珠、Nuclease-free ddH₂O、无水乙醇、低吸附吸头、Nuclease-free PCR 管、磁力架、PCR 仪等。

注意事项

1. 为保证 rRNA 去除效率, RNA 样品不应含盐离子 (例如 Mg²⁺ 或胍盐) 和有机物 (例如苯酚和乙醇)。
2. RNA 样品不应有基因组 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 RNA 样品浓缩。
4. 用于 RNA-Seq 的样品, 建议 Total RNA 起始量高于 100 ng, 以增加文库的复杂性。



实验流程

1. 探针杂交

1.1 在一个 200 μL Nuclease-free PCR 管中, 用 Nuclease-free ddH₂O 将 0.1~2 μg Total RNA 稀释至 10 μL , 置于冰上备用。

1.2 按照表 1 在一个 Nuclease-free PCR 管中配制探针杂交反应体系。有多个样品时, 可先将 Probe Buffer 和 Probe Mix (Plant)混合配成 Master Mix, 按照实际反应数的 1.1 倍配置体积, 以抵消吸液损耗。然后准确吸取 5 μL Master Mix 加入 Total RNA 中。

表 1 探针杂交反应体系

组分	1×反应体积 (μL)
Probe Buffer	3
Probe Mix (Plant)	2
Total RNA	10 (0.1~2 μg)
Total	15

1.3 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将样品收集至管底。

1.4 将样品置于 PCR 仪中, 按以下程序操作, 进行探针杂交反应, 设置热盖温度 105°C。

表 2 探针杂交反应程序

温度	时间
95°C	2 min
95°C→22°C	0.1°C/sec
22°C	5 min
4°C	Hold

2. rRNA 去除

2.1 按照表 3 配置 RNase H 消化反应体系。有多个样品时, 可先将 RNase H Buffer、RNase H 和 Nuclease-free ddH₂O 混合配成 Master Mix, 按照实际反应数的 1.1 倍配置体积, 以抵消吸液损耗。然后准确吸取 5 μL Master Mix 加入上一步产物中。

表 3 RNase H 消化反应体系

组分	1×反应体积 (μL)
RNase H Buffer	4
RNase H	1
上一步产物	15
Total	20

2.2 使用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心将样品收集至管底。

2.3 将上述样品置于 PCR 仪中, 设置反应程序: 37°C 30 min, 4°C Hold, 热盖温度 105°C。



3. DNase I 消化

3.1 按照表 4 配制 DNase I 消化反应体系。有多个样品时，可先将 DNase I Buffer、DNase I 和 Nuclease-free ddH₂O 混合配成 Master Mix，按照实际反应数的 1.1 倍配置体积，以抵消吸液损耗。然后准确吸取 30 μL Master Mix 加入上一步产物中。

表 4 DNase I 消化反应体系

组分	1×反应体积(μL)
DNase I Buffer	5
DNase I	1
Nuclease-free ddH ₂ O	24
上一步产物	20
Total	50

3.2 使用移液器轻轻吹打混匀，瞬时离心将样品收集至管底。

3.3 将上述样品置于 PCR 仪中，设置反应程序：37°C 30 min，4°C Hold，热盖温度 105°C。

4. RNA 纯化

4.1 准备工作：将 RNA 磁珠从冰箱中取出，室温平衡至少 30 min。另外用 Nuclease-free ddH₂O 配制 80%乙醇待用。

4.2 涡旋震荡或充分颠倒磁珠以保证充分混匀。

4.3 吸取 110 μL RNA 磁珠（2.2×，Beads:RNA=2.2:1）至上一步产物中，使用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 5 min），小心吸弃上清。

4.5 保持 PCR 管始终置于磁力架中，加入 200 μL Nuclease-free ddH₂O 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠，室温孵育 30 sec 后，小心吸弃上清。

4.6 重复步骤 4.5，总计漂洗两次，用 10 μL 吸头吸弃残留液体。

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 ddH₂O（或使用适合下游实验的相应体积 Nuclease-free ddH₂O 或洗脱缓冲液），使用移液器轻轻吹打充分混匀，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。

【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

高通量测序验证 Ribomoval® rRNA Depletion Kit (Plant) 对 rRNA 去除效果

实验各取三份 1 μg 拟南芥/水稻/番茄/玉米/大豆 total RNA 利用 Ribomoval™ rRNA Depletion Kit (Plant) 及 N company 试剂盒对 rRNA 进行去除, 搭配吉赛生物自主研发的 RNA 文库制备试剂盒 (#S05) 进行文库构建, 测序后的下机数据与相应的基因组数据库进行比对。

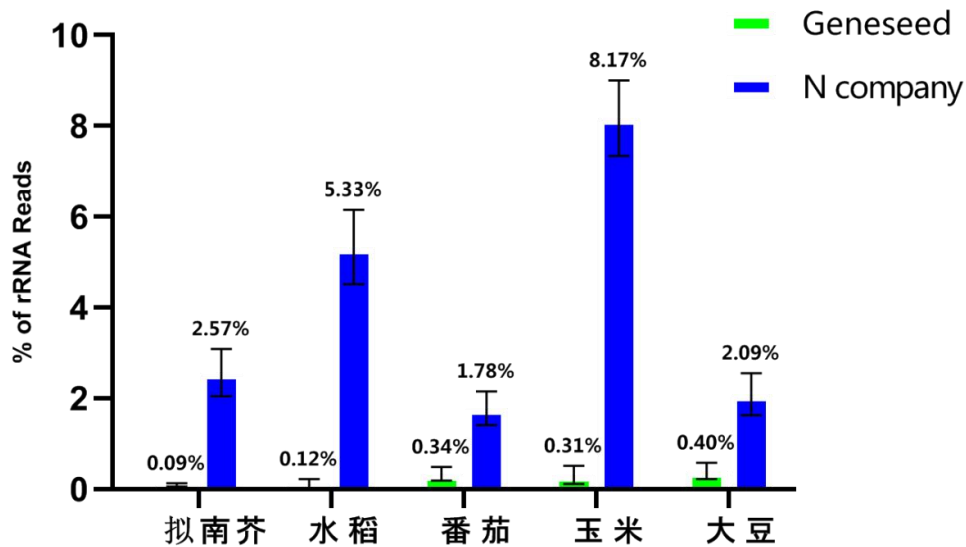


图 1 rRNA 残留率比较图

图 1 显示 Ribomoval® rRNA Depletion Kit (Plant)对 1 μg 拟南芥/水稻/番茄/玉米/大豆 total RNA 中的 rRNA 均有显著去除效果。同时与 N company 试剂盒对比, Ribomoval® rRNA Depletion Kit (Plant)的 rRNA 残留率更低, 去除效果更优。