

GeneRead™ rRNA Depletion Kit

高效去除 rRNA，适合新一代测序应用

核糖体 RNA 占了总 RNA 的 85–90%，它占用了宝贵的测序能力，使得测序信噪比很低，让目的 RNA 种类的检测变得很困难。GeneRead rRNA Depletion Kit 能高效去除核糖体 RNA (rRNA)，同时确保多个物种（包括人、小鼠和大鼠）中 mRNA 和非编码 RNA 的完全回收。此试剂盒可改善有用数据的比例，降低偏向性，并保留非编码 RNA 种类，从而提供了高质量的 RNA，特别适合新一代测序（NGS）应用。

GeneRead rRNA Depletion Kit 提供了：

- 超过 99.5% 的所有类型核糖体 RNA 的高效去除
- 其他 RNA 种类的无偏向保留
- 多个物种（包括人、小鼠和大鼠）中 rRNA 的高效去除
- 改善信噪比，有助于低丰度 RNA 的灵敏检测
- 节约新一代测序技术费用

rRNA 的高效去除带来高质量的 NGS 数据

新的高通量、新一代测序技术为多个研究领域带来了快速且通用的结果，包括癌症、干细胞研究、宏基因组学、群体遗传学和医学。如今的 NGS 研究越来越依赖于可从复杂样品和有限起始材料中获得高质量测序数据的能力。QIAGEN 凭借其在样本制备技术上的专长，为新一代测序流程提供了一系列专用产品，包括创新的样品富集方案，如 rRNA 去除。GeneRead rRNA Depletion Kit 可从总 RNA 样品中去除 rRNA 组分，让复杂的样品也能呈现清晰的 NGS 结果。

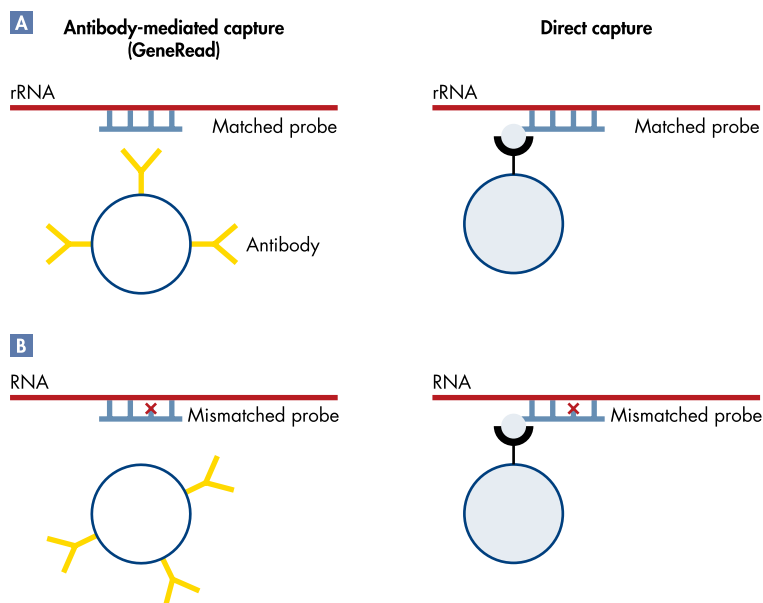


图 1. GeneRead 融合了两个步骤的特异性：DNA/RNA 序列特异性和抗体结合。 **A** 当寡核苷酸探针完全匹配时，通过直接捕获（如利用生物素-链霉亲和素磁珠）和抗体介导的捕获（GeneRead rRNA Depletion Kit）可成功捕获 rRNA 目标。**B** 当探针与 rRNA 之外的 RNA 种类交叉杂交时，错配的探针/RNA 将无法被 GeneRead rRNA Depletion 系统识别。相比之下，在直接捕获时，这第二种特异性水平就不存在，而其他种类的 RNA 也可能与 rRNA 共同去除。



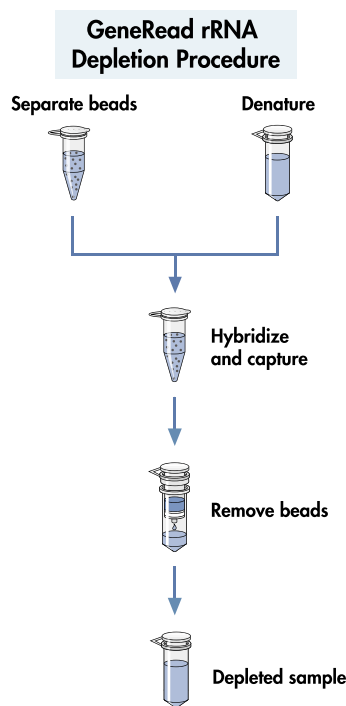


图 2. GeneRead rRNA Depletion Kit 的步骤。特异寡核苷酸探针与 rRNA 杂交，并与抗体结合，再被蛋白 G 磁珠捕获。磁珠的去除高效清除了样品中的 rRNA，随后可利用 RNeasy MinElute Cleanup Kit 纯化样品。

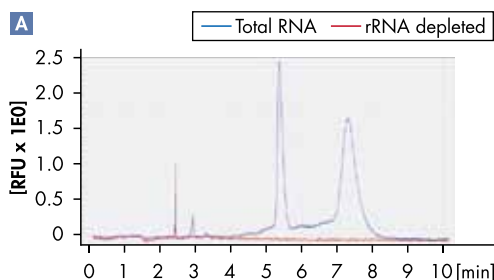
高效的 rRNA 去除步骤

GeneRead rRNA Depletion Kit 采用一种高效且特异的杂交方法来选择性去除 rRNA (图 1)。这种方法是基于特异寡核苷酸探针的杂交，这些探针可与大的 (18s、28s)、小的 (5s、5.8s) 及线粒体 (12s、16s) rRNA 杂交。RNA:DNA 杂合体被抗体识别，而产生的抗体-杂合体复合物被蛋白 G 磁珠高效捕获。随后将磁珠从样品中分离，从而去除 rRNA (图 2)。rRNA 去除后的样品保留了 RNA 种类的多样性，包含 poly A mRNA、非腺苷化 mRNA、非编码 RNA 和调控 RNA。

与亲和标签的方法不同，只有杂交后的探针才能被抗体和磁珠捕获系统所识别。这带来非常高的效率和快速反应时间。残留探针可通过 RNeasy® MinElute® Cleanup Kit 的 RNA 纯化来去除。从杂交、捕获到 RNA 纯化，大部分步骤都可在 QIAcube® 上自动完成。

所有 rRNA 种类的高效去除

GeneRead rRNA Depletion Kit 可高效去除所有种类的 rRNA，包括 4 种主要的核糖体 RNA 及线粒体 rRNA。大鼠脾脏 RNA 的 QIAxcel® 数据证明，与总 RNA 相比，18S 和 28S 核糖体 RNA 峰已完全去除 (图 3)。通过 qRT-PCR 测定去除后的样品时，我们可以看到超过 99.9% 的核糖体 RNA 被此试剂盒去除。



B

Ribosomal RNA	ΔC_t	% Removal
18S	11.84	99.97
28S	11.81	99.97
5S	11.16	99.96
5.8S	11.51	99.97
12S mt	12.84	99.99
16S mt	10.32	99.92

图 3. 高效的 rRNA 去除。 **A** QIAxcel 痕量数据中没有任何 rRNA 的峰，表明与总 RNA 样品相比，rRNA 去除样品中的 rRNA 已完全去除。 **B** qRT-PCR 分析表明，超过 99% 的 rRNA (包括线粒体 rRNA) 被此试剂盒去除。

高度特异的 rRNA 去除

rRNA 去除后已测序 RNA 的生物型分布表明，GeneRead rRNA Depletion Kit 可高效去除 rRNA，同时，比其他供应商的 rRNA 去除试剂盒相比，保留了更多的 miRNA 及其他非编码 RNA (图 4)。利用供应商 E 和 I 制备 RNA 的生物型分布显示了效果不佳的 rRNA 去除，而供应商 E 的试剂盒则富集了 scRNA (如 7SL 和 Alu RNA)。有了 GeneRead rRNA Depletion Kit，所有种类的 RNA (包括非编码 RNA) 都得到了保留，而 poly A 纯化只保留了蛋白编码 RNA。

避免蛋白编码基因的人为去除

GeneRead rRNA Depletion Kit 可高效去除 rRNA，而不影响其他 RNA 种类的自然表现。其他供应商的试剂盒可能向样品中的蛋白编码（poly A）RNA 倾斜，特别是通过非核糖体 RNA 的非特异去除。与之相反，GeneRead rRNA Depletion Kit 与 poly A 纯化表现出更好的一致性，并保留了其他 RNA 种类和蛋白编码基因的自然表现（图 5 和 6）。

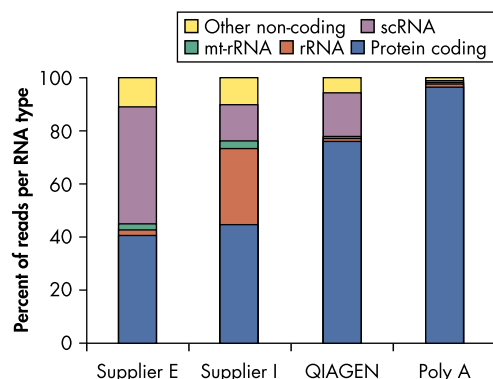


图 4. 更高效更特异的 rRNA 去除。对于每个去除或富集步骤，根据供应商的操作指南处理 Jurkat 细胞。所有已去除 / 富集的样品都利用同一种方法制备成文库，并在 MiSeq® 系统上通过 Illumina® 测序来进行多重测序。通过 Bowtie 2 将测序读取定位到 Ensembl® RNA 数据库，并对每个文库中定位到 Ensembl 生物型的读取百分比进行作图。

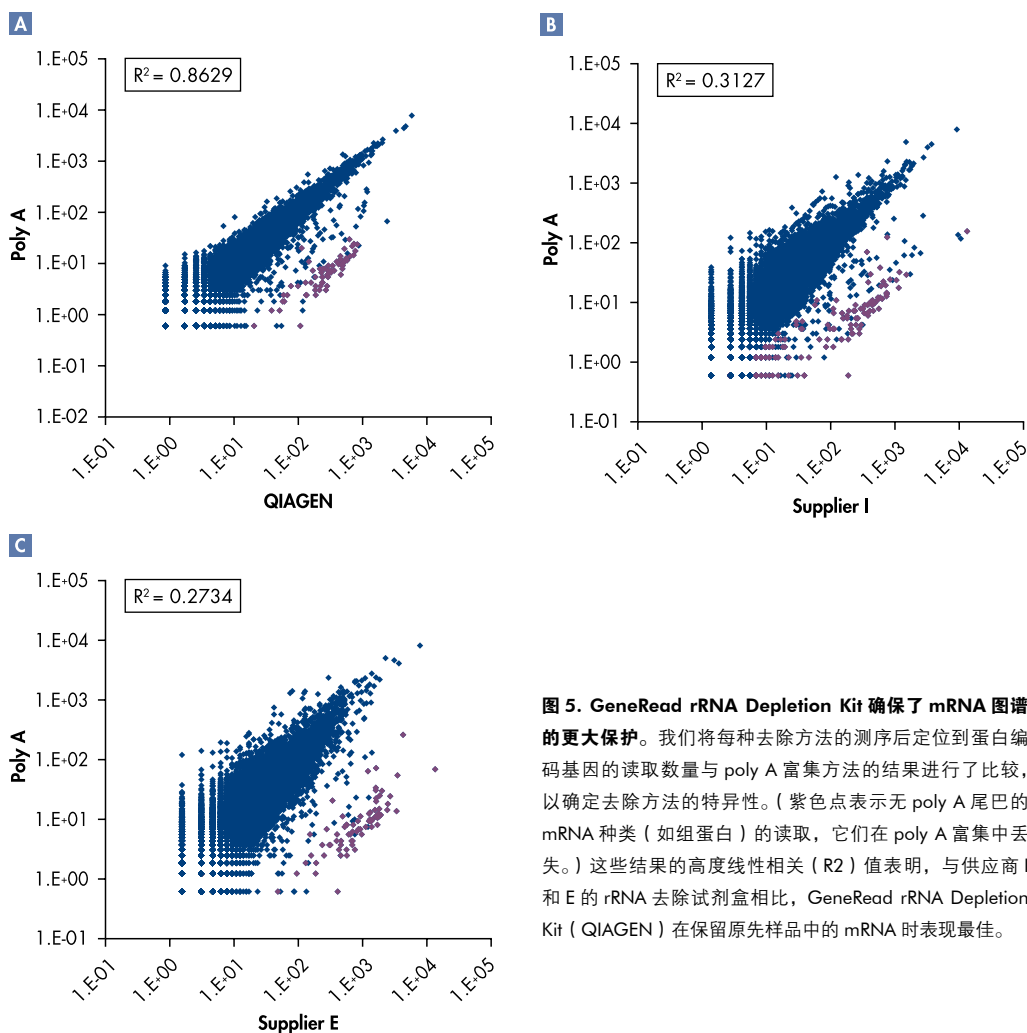


图 5. GeneRead rRNA Depletion Kit 确保了 mRNA 图谱的更大保护。我们将每种去除方法的测序后定位到蛋白编码基因的读取数量与 poly A 富集方法的结果进行了比较，以确定去除方法的特异性。（紫色点表示无 poly A 尾巴的 mRNA 种类（如组蛋白）的读取，它们在 poly A 富集中丢失。）这些结果的高度线性相关（ R^2 ）值表明，与供应商 I 和 E 的 rRNA 去除试剂盒相比，GeneRead rRNA Depletion Kit（QIAGEN）在保留原先样品中的 mRNA 时表现最佳。

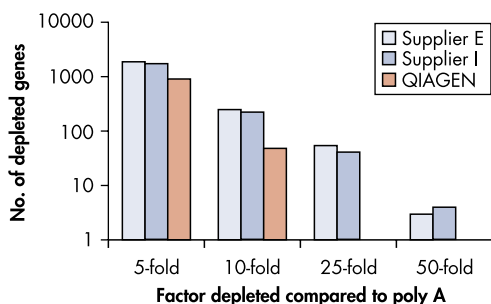


图 6. 特异的 rRNA 去除带来蛋白编码基因的更好表现。我们利用供应商 E、供应商 I 的试剂盒或 GeneRead rRNA Depletion Kit 去除 rRNA，之后将样品中存在的特异蛋白编码基因的丰度与 poly A 纯化方法进行了比较。与供应商 E 或供应商 I 的试剂盒相比，使用 GeneRead rRNA Depletion Kit 后去除基因的数量和去除的程度明显更低，而其他试剂盒会导致超过 70 倍的非特异去除，许多基因比 GeneRead 试剂盒翻了 10 倍或更多。

广泛的应用

利用 GeneRead rRNA Depletion Kit 制备的 RNA 适合广泛的下游应用，如：

- 新一代测序
- 实时定量 PCR
- 芯片分析

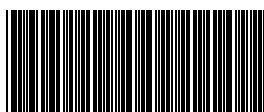
订购信息

产品	规格	货号
GeneRead rRNA Depletion Kit (6)	For 6 x 100 µl reactions: HMR rRNA Depletion Probes, Antibody Solution, Hybridization Buffer, Bio-Mag Protein G Beads, RNase-free Water, RNase Inhibitor, Small Spin Columns, Reaction Tubes	180211
配件		
RNeasy MinElute Cleanup Kit (50)	50 RNeasy MinElute Spin Columns, Collection Tubes, RNase-free Reagents, and Buffers	74204

关于最新的许可信息和产品特定的免责声明，请阅读相关的 QIAGEN 试剂盒手册或操作指南。QIAGEN 试剂盒手册和操作指南可在 www.qiagen.com 上下载，或向 QIAGEN 技术服务或当地的经销商索取。

访问 www.qiagen.com/goto/NGS，了解更多信息！

Trademarks: QIAGEN®, QIAcube®, QIAxcel®, GeneRead™, MinElute®, RNeasy® (QIAGEN Group); Ensemble® (Genome Research, Ltd.); Illumina®, MiSeq® (Illumina, Inc.).
8072964 11/2012 © 2012 QIAGEN, all rights reserved.



LS201211002

凯杰企业管理（上海）有限公司

电话: 021-3865 3865 ■ 技术支持热线: 800 988 0325 400 880 0325

TechService-CN@qiagen.com ■ www.qiagen.com

