



新产品

HiScribe™ T7 mRNA 合成试剂盒 (含 CleanCap® Reagent AG)

RNA 技术指南

高品质研究工具加快 RNA 研究进程



NEW ENGLAND
BioLabs® Inc.

be INSPIRED
drive DISCOVERY
stay GENUINE

目录

3 引言

- 3 RNA 相关资源
- 3 避免 RNase 污染
- 3 小鼠 RNase 抑制剂

4–8 RNA 纯化

- 4 Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒
- 5 RNA 提取操作小贴士
- 6 Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒的样本起始量和预期回收量
- 7 总 RNA 提取 & 纯化问题解决指南
- 8 RNA 纯化与浓缩

9–11 RNA 测序

- 9 NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备试剂盒
- 9 NEBNext® Ultra™ II RNA 非链特异性文库制备试剂盒
- 9 NEBNext® rRNA 去除试剂盒 v2 - 人/小鼠/大鼠
- 9 NEBNext® rRNA 去除试剂盒 - 细菌
- 9 NEBNext® Globin mRNA & rRNA 去除试剂盒 - 人/小鼠/大鼠
- 9 NEBNext® RNA 去除主要试剂套装
- 9 NEBNext® Poly(A) mRNA 磁性分离模块
- 10 Small RNA 测序
- 10 NEBNext® Small RNA 文库制备试剂盒
- 10 RNA 起始样本指南
- 11 NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒
- 11 NEBNext® 单细胞/超低起始量 cDNA 合成 & 扩增模块

12–15 RNA 检测

- 12 Luna® 通用 qPCR 预混液
- 12 Luna® 通用探针法 qPCR 预混液
- 12 Luna® 通用探针一步法 qPCR 预混液
- 12 Luna® 通用一步法 qPCR 预混液
- 13 LunaScript® 反转录 SuperMix 试剂盒
- 12-13 一步法 vs 两步法 RT-qPCR
- 14 优化建议
- 15 实验指南

16–17 RNA 合成

- 16 体外转录解决方案
- 17 Hiscribe™ RNA 合成试剂盒选择表

18 合成向导 RNA 用于 CRISPR/Cas9 实验

- 18 EnGen® sgRNA 合成试剂盒

19–21 定制研究方案

- 19 特色产品: RNA 连接酶
- 20 创新酶
- 21 特色产品: SplintR® 连接酶

22–23 订购信息

24 RNA Markers & Ladders



NEB 助您加快 RNA 研究进程

多年前，我们对 RNA 细胞功能的理解仅限于它能够将 DNA 中的遗传信息翻译成蛋白质。涉及到的 RNA 种类有：(A) 信使 RNA (mRNA)，将 DNA 信息传递到 RNA，(B) 转运 RNA (tRNA)，携带并转运特定氨基酸，(C) 核糖体 RNA (rRNA)，是核糖体的主要成分。最近研究发现，RNA 涉及多种生物过程，包括催化和转录调控。随着 RNA 分析和检测技术的进步，许多具有调控功能的新型小 RNA 和长非编码 RNA 被发现。例如：microRNA (miRNA)、环状 RNA、长非编码 RNA (lncRNA)、核仁小 RNA (snoRNA) 和胞外 RNA (exRNA)。此外，RNA 修饰揭示了 RNA 的复杂性。这些生物学修饰现已成为热点研究领域。上述发现引领了以 RNA 为核心的生物学研究复兴。

NEB 可提供用于 RNA 研究的系列试剂，包括：RNA 纯化、定量、检测、合成和处理。这些产品可支持您从实验室规模扩大到商业规模，全方位满足学术研究和工业生产需求。此外，我们的产品质量满足疫苗和诊断产品的生产需求。专业的酶学经验让我们能够持续改进产品性能并增加产量。

好的开始是成功的一半：避免 RNase 污染

污染源

- Dust & air
- Skin & hair
- Aqueous solutions & reagents
- Most surfaces (doorknobs, keyboards)

实验室注意事项

- Wear laboratory gloves and change them often
- Use RNase-free certified, disposable plasticware and solutions
- Decontaminate glassware & plasticware
- Maintain a separate, clean surface for RNA work

试剂配制

Diethylpyrocarbonate (DEPC) treatment:

1. Add 1 ml DEPC per liter of solution.
2. Stir for 1 hour.
3. Autoclave for 1 hour.

⊗ DEPC:

- Compounds with primary amine groups (e.g., Tris)
- Compounds that are not stable during autoclaving

Not using DEPC?

Prepare solution with Nuclease-free Water or Milli-Q® water

Dissolving solids:

- Use high-purity solids (e.g., DTT, nucleotides, manganese salts)
- Use autoclaved DEPC-treated or Milli-Q water
- Sterilize with a 0.22 µm filter

RNase 抑制剂

小鼠 RNase 抑制剂 (NEB #M0314)

- 抗氧化能力增强
- DTT 浓度 <1 mM 时活性最佳
- 与多种酶学反应体系兼容 (如：RT-qPCR)

胎盘 RNase 抑制剂 (NEB #M0307)

- 特异性抑制 RNase A、B、C 的活性
- 与多种酶学反应体系兼容

氯铂核糖核苷酸复合物 (NEB #S1402)

- 抑制 RNase A 型酶的活性
- 与多种 RNA 的纯化方法兼容，不能与 EDTA 一起使用，能抑制其它酶的活性

开展 RNA 研究，请登陆 [NEBna.com](https://www.neb.com)

特色产品

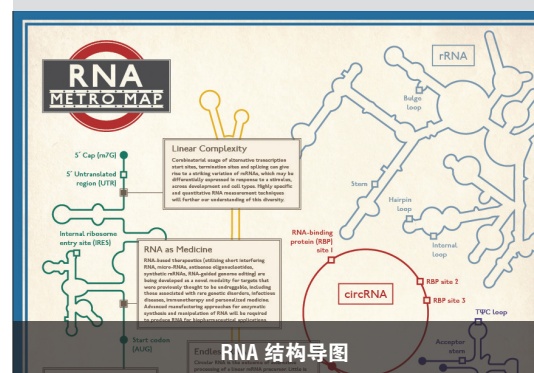
小鼠 RNase 抑制剂 (NEB #M0314)

- 与人/猪 RNase 抑制剂相比，抗氧化能力增强
- 适用于需要低浓度 DTT 的实验 (如：实时 RT-PCR)。
- 提供 GMP 级别试剂 (详见 16 页)

特色资源

登陆 NEBna.com 查看相关资源

- **RNA 合成手册**
NEB 合成 RNA 的产品介绍：从模板构建到加尾
- **Monarch 核酸纯化手册**
升级 DNA 和 RNA 纯化经验，了解 NEB Monarch 核酸纯化试剂盒优势
- **Luna qPCR & RT-qPCR 通用试剂手册**
更便捷的 Luna 产品选择方案，了解 Luna qPCR & RT-qPCR 试剂优势及同类产品比较
- **NEBNext 文库试剂手册，适用于 Illumina 平台**
了解 NEB NGS 文库制备方案，适用于多种样本，如：RNA、小 RNA 和 DNA
- **支持 COVID-19 研究**
了解 NEB 如何支持客户进行疫苗和即时诊断工具研发
- **创新酶**
NEB 创新酶具有独特的催化活性，可用于 RNA 研究
- **RNA 结构导图**
下载 RNA 海报，了解多种 RNA 结构及最新应用



DOWNLOAD THE NEB AR APP*

Find tips for avoiding RNA contamination.



*see back cover for details



RNA 纯化

RNA 纯化

分离高质量 RNA 对于下游应用至关重要，如克隆、反转录用于 cDNA 合成、RT-PCR、RT-qPCR 和 RNA-seq。RNA 纯化的方法多种多样，包括苯酚-氯仿提取、离心柱纯化和磁珠法。

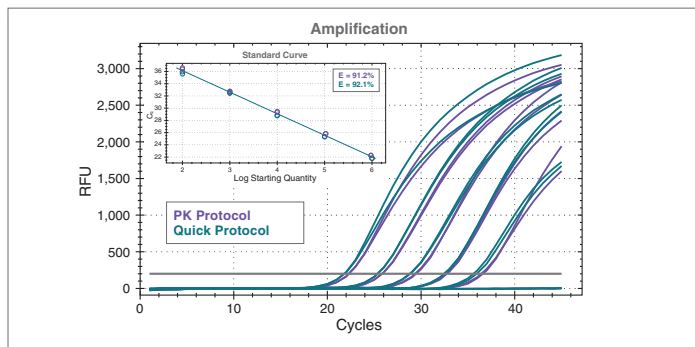
Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒

Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒是一款提取并纯化总 RNA 的全线解决方案试剂盒，能做到样本保存、细胞裂解、gDNA 去除，适用于从各种生物样本中提取总 RNA，如培养细胞、血液和哺乳动物组织，也适用于难裂解样本，如细菌、酵母和植物，只要增加一步来提高裂解效率。可用于从唾液、口腔拭子和鼻咽拭子等临床相关样本中提取总 RNA，包括病毒 RNA。该试剂盒还可以用于纯化酶学反应后的样本或者 TRIzol® 提取的样本，提取纯化后的 RNA 具有极高质量： $A_{260/280}$ 和 $A_{260/230}$ 比值均 ≥ 1.8 、高 RIN 值和极低 gDNA 残留；并且 RNA 片段包含完整的 miRNAs 和完整的 rRNAs。另外，改变结合条件可以选择性地筛选小于 200 nt 的 RNA，包含 miRNA、5S rRNA 和 tRNA。提取纯化得到的 RNA 可用于 RT-qPCR、cDNA 合成、RNA-seq、Northern blot 分析等下游实验。

快速轻松地多种样本类型中纯化多达 100 µg 的高质量总 RNA – 只需一款试剂盒！

- 应用于多种样本类型，包括临床相关样本，如拭子（口腔/鼻咽）和唾液；
- 纯化回收几乎所有片段大小的 RNA，包括 miRNA 和 ≥ 20 nt 的小 RNA；
- 提供 DNase I、gDNA 去除离心柱、蛋白酶 K 和稳定试剂；
- 可实现在 QIAcube® 和 KingFisher Flex 平台上，从某些样本中自动提取 RNA；
- 全面的 RNA 提取纯化解决方案，性价比更高。

Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒成功从唾液样本中纯化合成的 SARS-CoV-2 病毒 RNA



Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒、蛋白酶 K 和简便操作步骤用于从含有合成的 SARS-CoV-2 N 基因 RNA 的 10 倍梯度稀释的唾液样本中分离总 RNA。纯化的 RNA 使用 100 µl 无核酸酶水洗脱，产生 50 到 500,000 拷贝的病毒 RNA/µl。使用 Luna 通用探针一步 RT-qPCR 试剂盒（NEB #E3006），检测到低至 50 个拷贝（检测的最低起始样本量）的 RNA 含量，并可在 5-Log 范围内检测到 SARS-CoV-2 N 基因的线性定量回收。

特色产品

Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒 (NEB #T2010)

特性

- 结合能力：100 µg RNA
- RNA 大小： > 20 nt
- 纯度： $A_{260/280}$ 和 $A_{260/230} \geq 1.8$
- 起始样本量：高达 10^7 细胞或 50 mg 组织*
- 洗脱体积：30-100 µl
- 产量：依样本类型而定*
- 下游应用：NGS RNA 文库制备、RT-PCR、RT-qPCR 和 Northern blot 分析

*见第 6 页详细信息和其它样本类型

已针对以下样本类型进行了验证：

- | | | |
|--------------|---------|----------|
| • HeLa 细胞 | • 大鼠脾脏 | • 酿酒酵母 |
| • HEK 293 细胞 | • 大鼠肾脏 | • 大肠杆菌 |
| • NIH 3T3 细胞 | • 大鼠脑 | • 蜡状芽孢杆菌 |
| • 人血 | • 大鼠肌肉 | • 玉米叶 |
| • 大鼠血 | • 小鼠肌肉 | • 番茄叶 |
| • PBMC | • 小鼠心脏 | • 唾液 |
| • 血浆 | • 小鼠肾脏 | • 口腔细胞 |
| • 血清 | • 斑马鱼幼虫 | • 有核血 |
| • 大鼠肝脏 | • 果蝇 | |

有关起始样本量、产量、RIN 值的信息，请参阅第 6 页或访问 neb.com/MonarchRNAinputs。



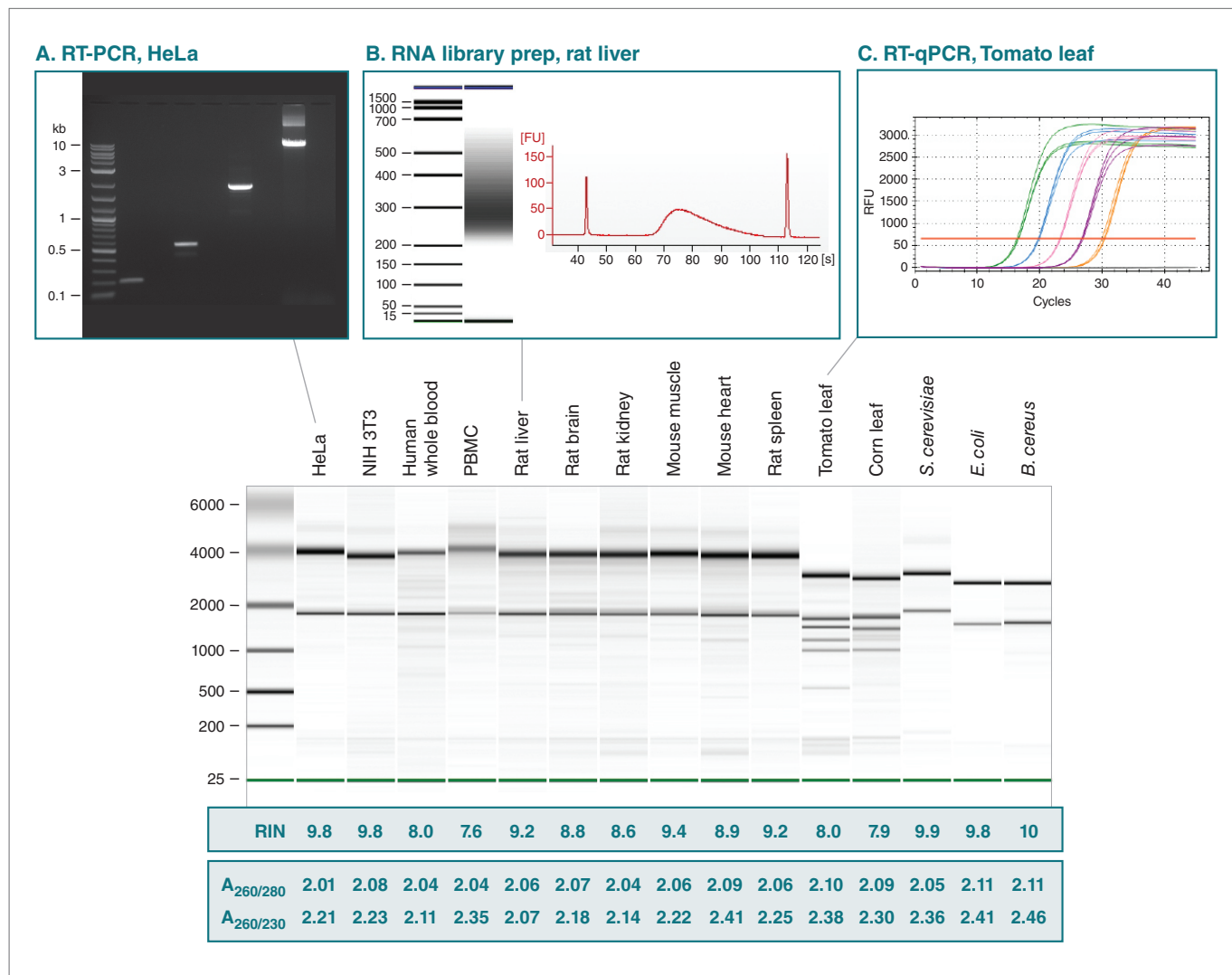
访问 NEBMonarch.com 获取试用装

查看使用 Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒成功纯化 RNA 的技巧。





Monarch 试剂盒提取纯化高质量 RNA 适用各种下游实验



Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒 (NEB #T2010) 从各种不同类型的样本中提取纯化总 RNA。提取得到的总 RNA 用 Nano 6000 RNA 芯片在 Agilent® Bioanalyzer 2100 仪器上进行分析 (酿酒酵母 RNA 使用植物分析模式)。通过 RIN 值和 O.D. 值确定 RNA 的完整性和纯度。随后验证与下游应用的兼容性: RT-PCR (+/- RT) (A): 使用 ProtoScript II 反转录酶 (NEB #M0368) / LongAmp Taq DNA 聚合酶 (NEB #M0323) 对 4 种不同的 RNA 片段进行检测; NGS 文库制备 (B): 使用 NEBNext Ultra II RNA 链特异性文库制备试剂盒 (NEB #E7760); RT-qPCR (C): 使用 Luna 通用一步法 RT-qPCR 试剂盒 (NEB #E3005)。



RNA 提取操作小贴士

- 抑制 RNase 活性:** 样本中的核酸酶会导致 RNA 降解, 所以在操作过程中必须抑制其活性。尽可能的快速处理样本, 或者采用 RNA 保护试剂, 并一直在无核酸酶的环境中进行实验操作。
- 样本起始量不超过推荐值:** 缓冲液体积是按照推荐样本起始量优化的最佳值, 样本超出推荐起始量会出现裂解不完全和堵塞过滤柱的情况。详见第 6 页。
- 确保样本完全粉碎及裂解:** 样本必须完全粉碎裂解以确保所有 RNA 完全释放
- 对于灵敏度高的后续应用, 一定要完全去除 gDNA:** gDNA 的去除可以通过 gDNA 去除离心柱及 DNase I 柱上处理来完成。也可以采用柱外 DNase I 处理。



RNA 纯化

Monarch 总 RNA 小量提取试剂盒的 样本起始量和预期回收量

因样本类型、起始量和样本条件不同，RNA 的产量、纯度和完整性有很大的差异。下表汇总了各种样本使用 Monarch 总 RNA 小提试剂盒后的经验产量和 RIN 值的数据，以及对不同样本最大起始量的建议。提取和纯化 RNA 时，一定不要使柱过载，因为 RNA 的产量、纯度和完整性都可能受到影响。

样本类型 ⁽¹⁾		起始量	平均产量 (μ G)	RIN 值	最大起始量
培养的细胞					
HeLa		1 x 10 ⁶ 细胞	12–15	9–10	1 x 10 ⁷ 细胞
HEK 293		1 x 10 ⁶ 细胞	12–14	9–10	1 x 10 ⁷ 细胞
NIH3T3		1 x 10 ⁶ 细胞	8–12	9–10	1 x 10 ⁷ 细胞
哺乳动物血液 ⁽²⁾					
人	新鲜血液	200 μ l	0.5–1.0	7–8	3 ml
	冷冻血液	200 μ l	0.5–1.0	7–8	3 ml
	稳定剂保存的血液	200 μ l	0.5–1.0	7–8	3 ml
大鼠	冷冻血液	100 μ l	5.6	9	1 ml*
血细胞					
PBMC (从 5 ml 全血中分离)		5 ml	3	7	1 x 10 ⁷ 细胞
组织					
大鼠肝脏	冷冻粉末	10 mg	25	8–9	20 mg
	稳定剂保存固体	10 mg	50–60	8–9	20 mg
大鼠脾脏 (珠磨匀浆的稳定剂保存固体)		10 mg	40–50	9	20 mg
大鼠肾脏 (冷冻粉末)		10 mg	7–10	9	50 mg
大鼠脑	冷冻粉末	10 mg	2–3	8–9	50 mg
	稳定剂保存固体	10 mg	0.5–1.5	8–9	50 mg
	珠磨匀浆的稳定剂保存固体	10 mg	5–8	8–9	50 mg
大鼠肌肉 (冷冻粉末)		10 mg	2–3	8–9	50 mg
小鼠肌肉	冷冻粉末	10 mg	3	8–9	50 mg
	珠磨匀浆粉末	10 mg	5	7–8	50 mg
	珠磨匀浆的稳定剂保存固体	10 mg	8–10	9	50 mg
小鼠心脏 (珠磨匀浆的稳定剂保存固体)		10 mg	5–6	8–9	50 mg
酵母					
酿酒酵母	珠磨匀浆冷冻样本	1 x 10 ⁷ 细胞	50	9–10**	5 x 10 ⁷ 细胞
<i>S. cerevisiae</i>	Zymolyase 处理的新鲜样本	1 x 10 ⁷ 细胞	60	9**	5 x 10 ⁷ 细胞
细菌					
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	冷冻样本	1 x 10 ⁹ 细胞	5	10	1 x 10 ⁹ 细胞
	珠磨匀浆的冷冻样本	1 x 10 ⁹ 细胞	10	10	1 x 10 ⁹ 细胞
	溶菌酶处理的冷冻样本	1 x 10 ⁹ 细胞	70	10	1 x 10 ⁹ 细胞
蜡样芽孢杆菌 <i>B. cereus</i>	溶菌酶处理的冷冻样本	1 x 10 ⁸ 细胞	20–30	9	1 x 10 ⁹ 细胞
	珠磨匀浆的冷冻样本	1 x 10 ⁸ 细胞	8	9–10	1 x 10 ⁹ 细胞
植物					
玉米叶片 (珠磨匀浆的冷冻粉末)		100 mg	45	8	100 mg
番茄叶片 (珠磨匀浆的冷冻粉末)		100 mg	30	8	100 mg

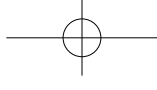
(1) 该试剂盒还成功地纯化了如下样本中的 RNA：果蝇、斑马鱼胚胎/幼体、血浆、血清、唾液、口腔拭子和有核血样；操作步骤详见说明书。

(2) 有核血样本（例如，鸟类，爬行类）的提取步骤也有提供。

* 小鼠血液样本最大起始量也为 1 ml。

** 酿酒酵母的总 RNA 在 Agilent® Nano 600 Chip 上用植物分析模式检测。

更新信息，请访问 neb.com/MonarchRNAinputs



总 RNA 提取 & 纯化问题解决指南

问题	原因	解决方案
柱堵塞	样本破碎或匀浆不充分	- 增加样本消化或匀浆时间 - 样本经蛋白酶 K 消化或匀浆后进行离心以沉淀碎片，仅用上清液进行后续操作 - 使用更大体积的 DNA/RNA 保护试剂（NEB #T2011）和/或 RNA 裂解液（NEB #T2012）进行样本裂解和匀浆。请参见产品手册中的特定样本操作流程或者访问网址 www.neb.com/T2010。
	样本量太多	减少起始样本量，以匹配试剂盒要求，并保证缓冲液量足够且柱子不过载。请参见第 6 页起始样本量选择指南。
RNA 产量低	洗脱不完全	- 将无核酸酶水（NEB #B1500）加入柱基质中，室温孵育 5-10 分钟，离心洗脱 - 进行二次洗脱（注意：会导致样本稀释）
	样本降解	- 提取前将起始样本保存在 -80°C - 用 Monarch DNA/RNA 保护试剂（NEB #T2011）保持 RNA 在保存过程中的完整性
	样本破碎或匀浆不充分	- 增加样本消化或匀浆时间 - 样本经蛋白酶 K 消化或匀浆后进行离心以沉淀碎片，仅用上清液进行后续操作 - 使用更大体积的 DNA/RNA 保护试剂（NEB #T2011）和/或 RNA 裂解液（NEB #T2012）进行样本裂解和匀浆。请参见产品手册中的特定样本操作流程或者访问网址 www.neb.com/T2010。 - 对于蛋白酶 K 处理的样本，蛋白酶 K 加倍（从 5% 到 10%）可能会增加 RNA 产量
	样本量太多	减少起始样本量，以匹配试剂盒要求，并保证缓冲液量足够且柱子不过载。请参见第 6 页起始样本量选择指南。
RNA 降解	起始材料处理/储存不当	使用前将起始样本保存在 -80°C。如果样本没有被快速冷冻或保护试剂保护，RNA 可能会发生降解。用 Monarch DNA/RNA 保护试剂（NEB #T2011）保持 RNA 在保存过程中的完整性。
	未按说明书操作可能会使 RNA 暴露于不必要的 RNase 环境中	请参阅产品手册中 RNA 操作通用指南
	洗脱材料或试剂盒缓冲液可能被 RNase 污染	有关减少污染风险的建议，请参阅产品手册中 RNA 操作通用指南
低 OD 比值	较低的 $A_{260/280}$ 值表明纯化后的样本中有残留蛋白	确保按推荐时间进行蛋白酶 K 处理。在加入乙醇和上样到 RNA 纯化柱之前，确保样本中没有细胞残渣。
	较低的 $A_{260/230}$ 值表明洗脱过程中有残留的胍盐	确保在洗脱样本前进行洗涤操作。操作时要小心，确保在最后洗涤时，柱头不会接触到流经液。如不确定，请重新离心。重复使用收集管时，在将其重新套到离心柱之前，需用 Kimwipe 吸水纸擦拭管的边缘，以去除任何残留的洗涤缓冲液。
DNA 污染	过柱没有去除基因组 DNA	- 可选择进行柱上 DNase I 处理，以从裂解的样本中去除不需要的基因组 DNA - 进行管内/柱外 DNase I 处理以去除基因组 DNA
	样本量太多	减少样本起始量，以匹配试剂盒要求，并保证缓冲液量足够且柱子不过载。请参见第 6 页样本起始量选择指南。
RNA 下游实验效率低	盐和/或酒精有残留	- 操作时要小心，以确保在最后洗涤时，RNA 纯化柱的柱头不会接触到流经液。如不确定，请重新离心。 - 用 RNA 洗涤缓冲液最后一次洗涤后，一定要离心 RNA 纯化柱 2 分钟 - 重复使用收集管时，在将其重新套到离心柱之前，需用 Kimwipe 吸水纸擦拭管的边缘，以去除任何残留的洗涤缓冲液 - 增加额外的洗涤步骤和/或延长最后洗涤的离心时间
分光光度读数异常	RNA 浓度太低，无法进行分光光度分析	- 获取更高浓度的 RNA，可用 30 μl 无核酸酶的水洗脱 - 增加样本起始量（在试剂盒允许范围内）。请参见第 6 页样本起始量选择指南。
	硅粉出现在洗脱物中	重新离心洗脱样本，并从液体顶部吸取液体，以确保 $A_{260/230}$ 不受可能被洗脱下来的二氧化硅颗粒的影响



RNA 纯化与浓缩

由于对快速修饰和操作 RNA 能力的高需求，快速可靠的 RNA 纯化方法变得越来越重要。例如，在体外转录（IVT）合成 RNA 后，应去除未掺入的核苷酸、中止的转录本、酶和缓冲液成分后，再使用转录本用于 RNP 形成或显微注射；在 RNA 标记、加帽、蛋白酶 K 处理和 DNase I 处理等标准操作步骤后去除反应物也会对实验结果有帮助；RNA 纯化同样有利于 RNA-seq 或 RT-qPCR 等灵敏度高的下游应用。

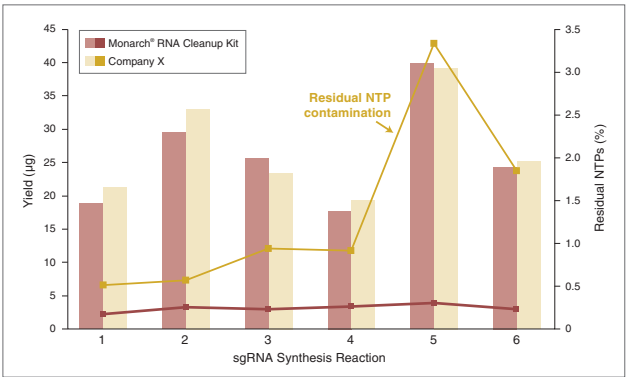
可以通过多种方式纯化 RNA，包括苯酚/氯仿提取和乙醇沉淀、氯化锂沉淀或凝胶纯化。硅胶柱纯化是一种常用且用户友好的快速 RNA 纯化方法。基于离心柱的纯化方法还提供了一种使用低洗脱体积浓缩纯化 RNA 的简便方法。NEB 自豪地为您的所有 RNA 工作流程提供一系列高性能且易于使用的 RNA 纯化试剂盒。

Monarch RNA 纯化试剂盒采用简单快速的基于二氧化硅膜的离心柱技术，适用于酶学反应后 RNA 的纯化和浓缩（体外转录（IVT）、DNase I 处理、加帽、加尾和标记）以及在使用其它 RNA 纯化方法（如苯酚/氯仿提取）后的进一步纯化。这些试剂盒还可用于从细胞、唾液和口腔/鼻咽拭子中提取 RNA。NEB 提供 3 种不同的结合能力的 Monarch RNA 纯化试剂盒，可根据不同应用灵活选择。每种试剂盒都包含独特设计的纯化柱，可以避免缓冲液滞留并确保无污染残留，从而实现高纯度 RNA 的低体积洗脱。根据标准操作流程，可纯化 ≥ 25 nt 的 RNA；也可以使用调整后的操作流程来纯化小至 15 nt 的 RNA（包括 miRNA）。

Monarch RNA 纯化试剂盒参数

MONARCH RNA 纯化试剂盒	NEB #T2030 (10 µg)	NEB #T2040 (50 µg)	NEB #T2050 (500 µg)
结合能力	10 µg	50 µg	500 µg
RNA 片段大小	≥ 25 nt (调整 protocol 可回收 ≥ 15 nt 的 RNA)		
常规回收率	70–100%		
洗脱体积	6–20 µl	20–50 µl	50–100 µl
RNA 纯度	$A_{260/280} > 1.8$ and $A_{260/230} > 1.8$		
实验时间	离心和孵育时间 5 分钟		离心和孵育时间 10–15 分钟
常见下游应用	RT-PCR、NGS RNA 文库构建、NGS 小 RNA 文库构建、RNA 标记	RT-PCR、NGS RNA 文库构建、基因编辑 RNP 制备、显微注射、RNA 标记、转染	RT-PCR、NGS RNA 文库构建、RNAi、显微注射、RNA 标记、转染

Monarch RNA 纯化试剂盒（50 µg）与竞争品牌 RNA 纯化试剂盒相比，RNA 产量相当，NTP 残留更低



使用 EnGen® sgRNA 合成试剂盒，*S.pyogenes* (NEB #E3322) 进行 6 个不同的 sgRNA 合成反应后，使用 Monarch RNA 纯化试剂盒（50 µg，NEB #T2040）和竞争品牌试剂盒（遵照厂商说明书）进行纯化，并用 50 µl 无核酸酶水洗脱。根据 Trinean DropSense 16 测得的 A_{260} 计算出 sgRNA 产量。Monarch RNA 纯化试剂盒产生的 sgRNA 产量与其它市售 RNA 纯化试剂盒相当。

纯化后核苷酸（NTP）残留量使用 LC-MS 测量，通过 NTP 面积（rATP+rCTP+rGTP+rUTP）占 sgRNA 面积的百分比计算。NEB 的 Monarch RNA 纯化试剂盒在去除 sgRNA 合成反应中残留的 NTP 方面，始终优于其它市售的 RNA 纯化试剂盒。

查看使用 Monarch RNA 纯化试剂盒成功纯化的技巧。



特色产品

Monarch RNA 纯化试剂盒（10 µg）(NEB #T2030)

Monarch RNA 纯化试剂盒（50 µg）(NEB #T2040)

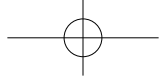
Monarch RNA 纯化试剂盒（500 µg）(NEB #T2050)

优势

- 在数分钟内分离出高纯度的 RNA ($A_{260/280}$ 、 $A_{260/230} \geq 1.8$)
- 使用一种洗涤缓冲液和简化的 RNA 纯化流程
- 洗脱体积低至 6 µl (NEB #T2030) 或 20 µl (NEB #T2040)
- 结合高达 500 µg RNA (NEB #T2050)
- 微调实验方案可纯化低至 15 nt 的片段
- 可用于某些样本的 RNA 提取；唾液样本的 RNA 提取可以实现在 QIAcube 和 KingFisher Flex 平台上自动化

应用

- 适用于酶学反应后 RNA 的纯化和浓缩（例如：DNase I 和蛋白酶 K 处理）
- RNA 合成后纯化（IVT 和 sgRNA 合成）
- 粗提 RNA 的纯化和浓缩（例如：TRIzol 提取后）
- 从细胞、唾液和拭子（口腔/鼻咽）中提取 RNA
- RNA 胶回收



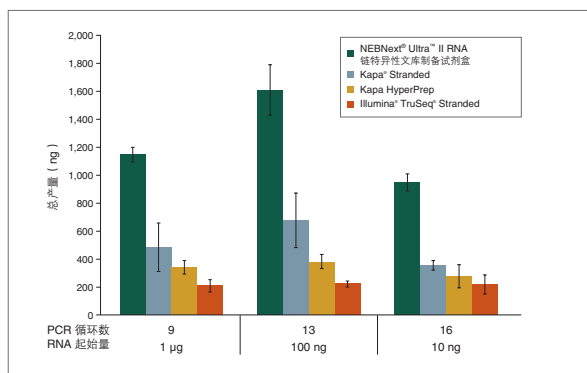
RNA 测序

二代测序 (NGS) 可用于确定样本中 RNA 的种类和数量, 从而实现灵敏准确的基因表达分析。对于 Illumina 测序平台, 制备 mRNA 文库需先去核糖体 RNA, 之后进行 cDNA 合成, 再进行 DNA 文库制备步骤: 末端修复、添加单独的 dA 突出端、连接接头和 PCR 扩增。

Get even more from less with NEBNext Ultra II

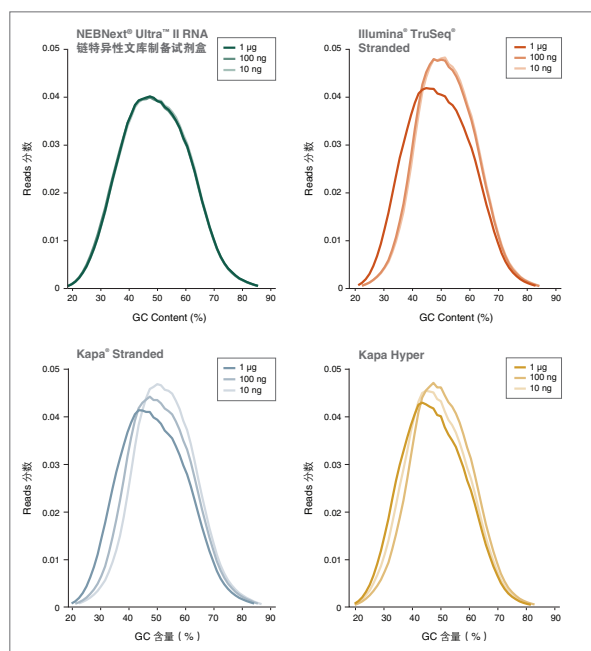
适用于 Illumina 测序平台的 NEBNext® Ultra™ II RNA 文库制备试剂盒可用于链特异性和非链特异性 RNA 文库制备, 并可通过 RNA 测序显著提高灵敏度和特异性, 从而满足日益减少的 RNA 起始量需求。结合核糖体 RNA (rRNA) 去除或 poly(A) mRNA 富集, 使用该试剂盒可分别从 5 ng 或 10 ng 总 RNA 制备高质量文库, 起始量最高可达 1 µg。

NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备产品从不同起始量 RNA 均能得到最高的文库产量。



从 10 ng、100 ng 和 1 µg 的人通用参考 RNA (Agilent # 740000) 中分离含有 Poly(A) 的 mRNA, 分别使用 NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备试剂盒、Kapa Stranded mRNA-Seq 试剂盒、Kapa mRNA HyperPrep 试剂盒和 Illumina TruSeq Stranded mRNA 试剂盒制备文库。RNA 起始量和 PCR 循环数如图所示。

NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备试剂盒从不同起始量均能得到均一的 GC 含量分布。



从人通用参考 RNA (Agilent # 740000) 中分离含有 Poly(A) 的 mRNA, 并使用 NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备试剂盒 (加上 NEBNext® Poly(A) mRNA 磁性分离模块)、Illumina TruSeq Stranded mRNA 试剂盒、Kapa Stranded mRNA-Seq 试剂盒和 Kapa mRNA HyperPrep 试剂盒建库。使用 Illumina NextSeq® 500 进行双端测序 (2x76 bp), 将 Reads 与 hg19 参考基因组进行比对。使用比对后的 Reads 计算每个文库的 GC 含量分布。Ultra™ II RNA 链特异性文库从不同起始量均能得到均一的 GC 含量分布, 而对于其它试剂盒, GC 含量分布随起始量的不同而变化, 这表明存在起始量依赖性偏差。

特色产品

NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备试剂盒
(NEB #E7760、#E7765)

NEBNext® Ultra™ II RNA 非链特异性文库制备试剂盒
(NEB #E7770、#E7775)

NEBNext® RNA 去除试剂盒:

- 人/小鼠/大鼠 rRNA (NEB #E7400、#E7405)
- 细菌 rRNA (NEB #E7850、#E7860)
- Globin mRNA & rRNA (NEB #E7750、#E7755)
- 客户定制 RNA 去除 (NEB #E7865、#E7870)

NEBNext® Poly(A) mRNA 磁性分离模块
(NEB #E7490)

NEBNext® 接头引物 (neb.com/oligos)

产品优势

- 更高的文库产量, 满足更多实验需求
- 即使是起始量极低的 RNA 样本, 依然可以制备高质量文库:
 - 10 ng - 1 µg 总 RNA (polyA mRNA 纯化流程)
 - 5 ng - 1 µg (rRNA 去除流程)
- 通过减少 PCR 循环获得最低的偏嗜性
- 提高文库复杂度和转录本覆盖率
- 流程化的操作设计, 减少了手动操作时间, 与自动化兼容
- 质量很差的 RNA (如 FFPE 样本), 依然有出色的性能
- 可与 NEBNext® poly(A) mRNA 富集、rRNA 去除试剂和多样本接头引物一起使用
- 登陆 www.NEBNextSelector.neb.com 使用 NEBNext selector tool 帮助您选择合适的 NEBNext® 产品

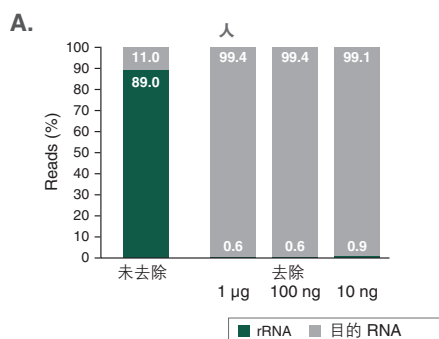


登陆 **NEBNext.com** 获取更多产品信息并申请试用装

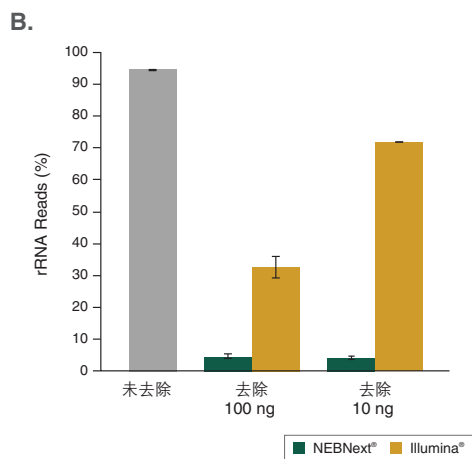


RNA 测序

从不同起始量的人样品中，NEBNext® rRNA 去除试剂盒 v2 均能高效富集目的 RNAs。



NEBNext® rRNA 去除试剂盒 v2 在保证转录本丰度的同时，能有效地从降解的 FFPE 总 RNA 中去除 rRNA。



使用 NEBNext® rRNA 去除试剂盒 v2 (人/小鼠/大鼠) (A、B) 和 TruSeq® Stranded Total RNA Gold Kit (B) 从人通用参考总 RNA (A) 和成人正常肝组织 FFPE 总 RNA (RIN 2.3) (B) 中去除 rRNA。使用 NEBNext® Ultra™ II RNA 链特异性文库制备试剂盒制备文库，并进行 Illumina 双端测序 (2 x 75 bp)。

从去除后的文库中抽取 (seqtk) 1000 万 (A) 和 2000 万 (B) 个 Reads，从未去除的文库中抽取 2 亿个 Reads，使用 Mirabait 鉴定核糖体 RNA。



SMALL RNA 测序

NEBNext® Small RNA 文库制备试剂盒独特的实验流程能够最大限度地减少接头二聚体地形成，同时使用简单的流程便可实现多样本高产量文库制备。

- 最大限度地减少接头二聚体地形成
- 更高的文库产量
- 可以使用总 RNA 作为起始 RNA
- 适用于甲基化小 RNAs (如 RNAs 和非甲基化小 RNAs)
- 提供 48 引物
 - NEBNext® Small RNA 多样本文库制备试剂盒 1 (12 种 Index 引物) (NEB #E7300)
 - NEBNext® Small RNA 多样本文库制备试剂盒 2 (12 种 Index 引物) (NEB #E7580)
 - NEBNext® Small RNA 多样本文库制备试剂盒 (48 种 Index 引物) (NEB #E7560)
 - NEBNext® Small RNA 单样本文库制备试剂盒 (1 种 Index 引物，与多样本兼容) (NEB #E7330)

登陆 [NEBNext.com](https://www.nebnext.com) 了解更多产品信息



RNA 起始样本指南

RNA 的完整性

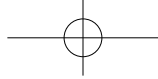
- 我们推荐在 Agilent TapeStation 平台或类似平台上使用 RNA 完整性计数 (RIN) 来评估 RNA 起始样本的质量。理想情况下 RNA 样本的 RIN 值要大于等于 7，但 NEBNext® RNA 产品可用于低 RIN 值的 RNA 样本。

- RNA 中应完全不含 DNA。推荐使用不含 RNA 酶的 DNase I (如在 Monarch® 总 RNA 小量提取试剂盒中提供的) 处理纯化的 RNA。

RNA 定量

- 文库制备前 RNA 的精确定量是非常重要的。可在 Agilent Bioanalyzer、或类似平台 (如: Pico

或 nano chip) 上测量浓度。也可使用像 NanoDrop® 等分光光度计确定 RNA 的浓度，在 260 nm (A_{260}) 处测定吸光度。请注意：游离的核苷酸或其它常规用于提取 RNA 的有机化合物也将吸收 UV 260 nm 附近的光，这将导致 RNA 浓度被过高估计。

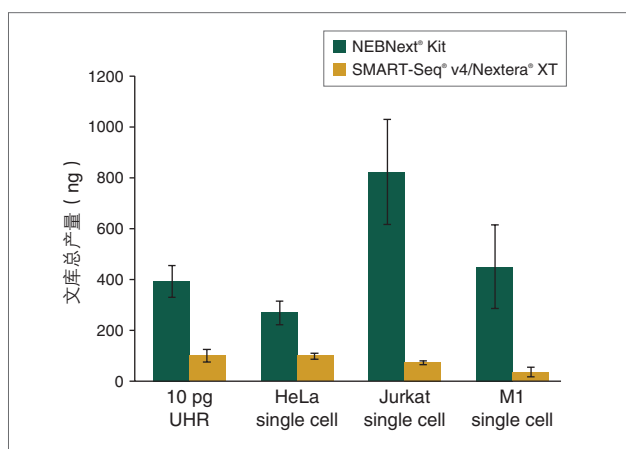


NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备

NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒可从单个细胞或 2 pg - 200 ng 的总 RNA 制备全长转录本的高质量文库，优化的工作流程满足了更高灵敏度、更快速的文库构建需求。

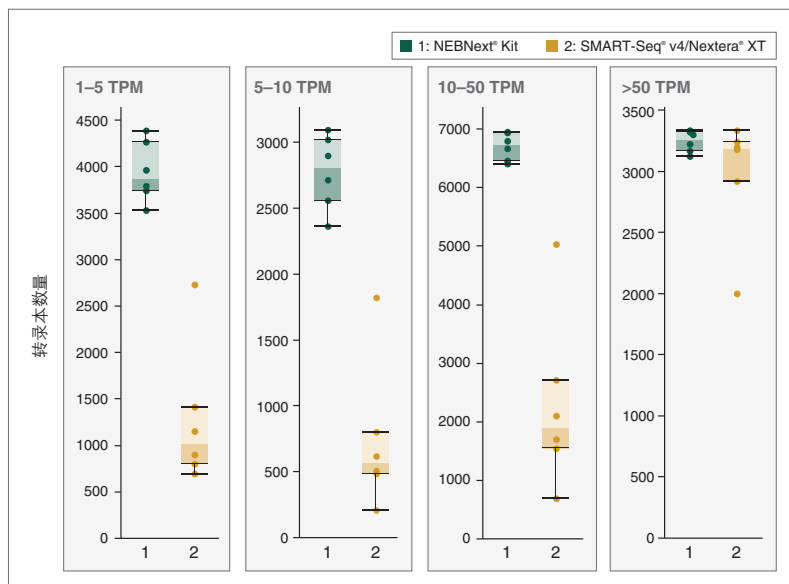
优化的 cDNA 合成和扩增步骤包含模板转换，同时采用特有的实验流程和试剂。即使低丰度转录本也可获得高产量的 cDNA。后续文库构建采用 NEBNext® Ultra™ II FS DNA 片段化/末端修复/加 dA 尾试剂盒，使建库流程更简单高效。

使用 NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒制备文库，能获得更高的文库产量。



以 HeLa 单细胞、Jurkat 单细胞、M1 单细胞和混有推荐量的 ERCC RNA Spike-In 混合物 I (Thermo Fisher Scientific® #4456740) 的 10 pg 人通用参考 (UHR) RNA (Agilent® #740000) 为样本制备文库。分别采用 NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒、SMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA 试剂盒 (Clontech® #634891) 及 Nextera XT DNA 文库制备试剂盒 (Illumina® #FC-131-1096) 制备文库。使用 NEBNext® 试剂盒时，将 80% 的 cDNA 作为起始量，用 8 个 PCR 循环扩增文库。使用 SMART-Seq v4/Nextera XT 建库时，采用推荐的 125 pg cDNA 作为起始量，用 12 个 PCR 循环扩增文库。误差条表示 6 - 11 个重复数据的标准差。

使用 NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒制备文库，能显著增加转录本检测数量。



以 Jurkat 单细胞 (6 个重复) 为样本制备文库，分别采用 NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒、SMART-Seq v4 Ultra Low Input RNA 试剂盒 (Clontech® #634891) 及 Nextera XT DNA Library Prep 试剂盒 (Illumina® #FC-131-1096) 制备文库。文库通过 Illumina NextSeq® 500 (2 x 76 bp) 双端测序。TPM = 每百万个千碱基长度的转录本。每个圆点代表在给定的 TPM 范围内检测到的转录本数量，框代表各个重复和不同方法的中位数、第一四分位数及第三四分位数。使用 Salmon 0.6 完成所有 GENCODE v25 转录本的比对和量化。图中显示了在以下 TPM 范围内检测到的转录本数量：1 - 5、5 - 10、10 - 50 和 > 50 TPM。结果表明，使用 NEBNext® 文库制备方法能检测到更多的低丰度转录本。

特色产品

NEBNext® 单细胞/超低起始量 RNA 文库制备试剂盒 (NEB #E6420)

NEBNext® 单细胞/超低起始量 cDNA 合成 & 扩增模块 (NEB #E6421)

- 从单个细胞或 2 pg - 200 ng 的总 RNA 制备最高产量、最高质量的 cDNA 文库
- 用于极难检测的低丰度转录本
- 不同起始量及样本类型，均能保证转录本检测的一致性和均一的覆盖度
- 适用于多种起始样本的文库制备，包括：培养细胞、原代细胞和总 RNA
- 节省时间：采用快速、精简的工作流程，减少了操作步骤和手动操作时间



RNA 检测

qPCR 和 RT-qPCR

实时荧光定量 PCR (qPCR)，即通过实时荧光检测的方法对 PCR 循环过程中的 DNA 进行定量。产生荧光信号的方法有很多，其中最常见的是水解探针法（如：TaqMan®）和双链 DNA 嵌合染料法（例如：SYBR® Green）。如需对 RNA 样品进行检测和定量，则需先使用反转录酶（RT）合成 cDNA（即 RT-qPCR），再进行 qPCR 检测。反转录可以与 qPCR 分开进行，也可以直接加到 qPCR 预混液中进行（即一步法 RT-qPCR）。一步法流程通常适用于样品量受限的分子诊断。如需要对起始样品进行多次检测或需要保存 cDNA 时，则建议先反转录合成 cDNA，再进行 qPCR 检测（即两步法 RT-qPCR）。

Luna 试剂，相伴同行

NEB Luna 系列试剂针对 qPCR 或 RT-qPCR 进行了优化，可提供适用于染料法或探针法剂型。所有 Luna 试剂在不同来源的样品和靶标上均体现出良好的性能。

Luna 试剂选择表

2 Select your detection method		染料法	探针法
1 Select your target	基因组 DNA 或 cDNA	Luna® Universal qPCR Master Mix (NEB #M3003)	Luna Universal Probe qPCR Master Mix (NEB #M3004)
	纯化的 RNA 一步法 RT-qPCR	Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit (NEB #E3005)	Luna Universal Probe One-Step RT-qPCR: • Kit (NEB #E3006) • Kit (no ROX) (NEB #E3007) • 4X Mix with UDG (NEB #M3019)
	两步法 RT-qPCR	LunaScript® RT SuperMix Kit (NEB #E3010) + Luna Universal qPCR Master Mix (NEB #M3003)	LunaScript RT SuperMix Kit (NEB #E3010) + Luna Universal Probe qPCR Master Mix (NEB #M3004)
	细胞裂解 RNA	Luna Cell Ready One-Step RT-qPCR Kit (NEB #E3030)	Luna Cell Ready Probe One-Step RT-qPCR Kit (NEB #E3031)

一步法 RT-qPCR

Luna RT-qPCR 试剂盒包含的反转录酶（RT）是一种新型的基因工程改造酶。试剂盒中的 Luna 温启动反转录酶和 Taq 热启动 DNA 聚合酶，均利用对温度敏感，且可逆结合的适配体，在温度低于 45℃ 时抑制酶活性。因此可在室温下建立体系，且能够避免非特异扩增。Luna 探针一步法 RT-qPCR 4X 预混液（含 UDG）（NEB #M3019）为 4X 浓度，可提高样品加入量，特别适合目标 RNA 量低的样品，例如：病毒 RNA 或病原体检测。

特色产品

- Luna 通用 qPCR 预混液 (NEB #M3003)
- Luna 通用探针法 qPCR 预混液 (NEB #M3004)
- Luna 通用一步法 RT-qPCR 试剂盒 (NEB #E3005)
- Luna 通用探针一步法 RT-qPCR 试剂盒 (NEB #E3006)
- Luna 探针一步法 RT-qPCR 试剂盒 (无 ROX) (NEB #E3007)
- Luna 探针一步法 RT-qPCR 4X 预混液 (含 UDG) (NEB #M3019)
- Luna SARS-CoV-2 多重 RT-qPCR 检测试剂盒 (NEB #E3019)

选择更简单

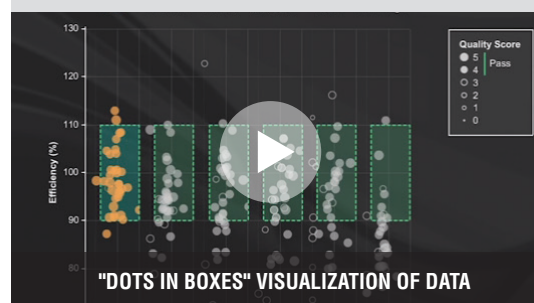
- 预混液剂型使用便捷、操作方案友好、建立体系简单
- 无干扰的可见示踪染料，减少加样错误

试剂性能卓越

- 所有 Luna 产品均经过严格的测试，以确保达到更高的特异性、灵敏度、精确性、重复性等
- 对于各种样品均能达到一致的性能
- 该预混液可减少交叉污染

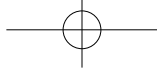
使用 Luna 温启动反转录酶优化一步法 RT-qPCR 反应

- 新型热稳定型反转录酶（RT）改善实验表现
- 温启动反转录酶和热启动 Taq 酶增加反应特异性和功效

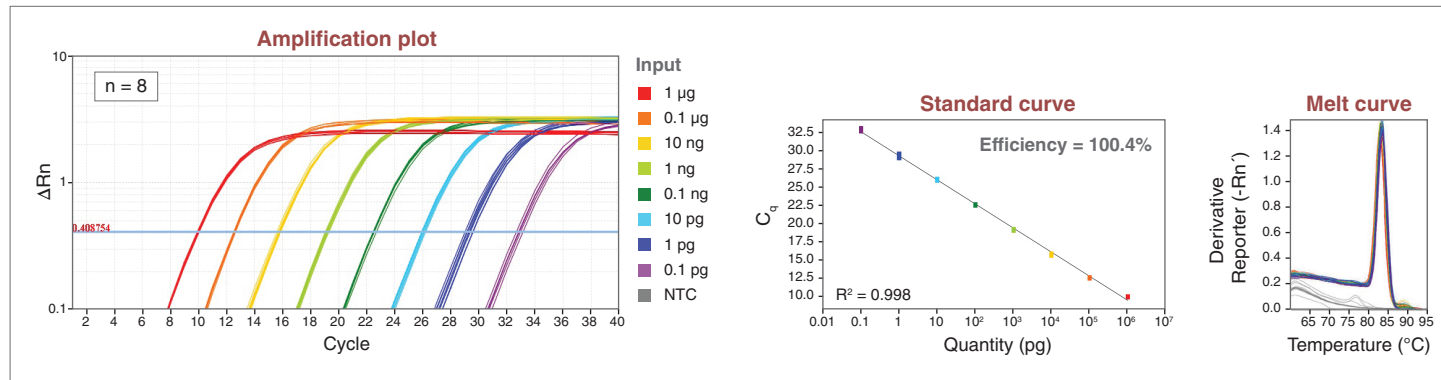


Find an overview of qPCR.





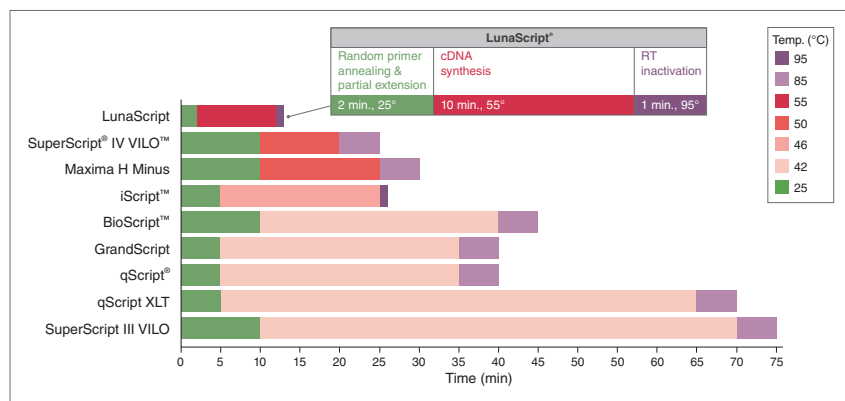
使用 Luna 温启动反转录酶做 RT-qPCR，灵敏度、重复性更好



两步法 RT-qPCR

LunaScript 反转录 SuperMix 试剂盒是两步法 RT-qPCR 的理想选择，用于第一链 cDNA 合成流程。LunaScript 性能卓越，操作方案友好，并包含蓝色可见染料，可在 RT-qPCR 工作流程示踪样品。LunaScript 反转录出来的 cDNA 可使用 Luna 通用 qPCR 预混液 (NEB #M3003) 和 Luna 通用探针法 qPCR 预混液 (NEB #M3004) 进行 qPCR 测试。上述两种产品提供了两步法 RT-qPCR 解决方案，实验结果具有良好的灵敏度、准确度以及线性定量能力。

LunaScript SuperMix 反转录试剂盒的第一链 cDNA 合成时间极短，仅需 13 分钟。



比较了不同厂家的 cDNA 合成方案。LunaScript SuperMix 反转录试剂盒需要的反应时间最短，并可以耐受高温，避免了 RNA 复杂二级结构的影响。

特色产品

LunaScript 反转录 SuperMix 试剂盒 (NEB #E3010)

LunaScript[®] 反转录预混液试剂盒 (无引物) (NEB #E3025)

优化 RT-qPCR 实验

- 使用便捷的 supermix 剂型 (NEB #E3010) 或将您的引物和我们的预混液 (NEB #E3025) 结合使用，可轻松建立反应体系
- 无干扰的可见示踪染料，避免加样错误
- 15 min 内即可完成 cDNA 合成
- 体验卓越性能，产品均经过严格的测试，以确保达到更高的特异性、灵敏度、精确性、重复性等
- 线性度、灵敏度始终如一，RNA 定量准确可信

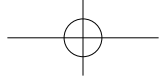


申请 Luna 试用装，请联系您所在地区的代理商，了解更多 qPCR 信息，请登陆 **LUNAqPCR.com**



在寻找适合其它应用的反转录酶吗？

NEB 可提供多种反转录酶，包括 ProtoScript II 反转录酶 (NEB #M0368) 和 WarmStart RTx 反转录酶 (NEB #M0380)，适用于等温扩增 (如：LAMP)。详情请参阅第 22 页反转录酶完整列表，登陆 www.neb.com/isoamp 获取等温扩增产品更新信息。



Luna 一步法 RT-qPCR 优化技巧

优化技巧

NEB 提供用于 qPCR 和 RT-qPCR 实验的 Luna 产品。有关产品的详细信息请登陆 [LUNAqPCR.com](https://www.neb.com) 查询。以下内容可以帮助您优化一步法 RT-qPCR 实验。qPCR (DNA/cDNA 起始模板) 优化指南请参见 324 页。

目的片段选择

- 为了最大化的扩增效率，推荐短的 PCR 扩增子，片段范围 70-200 bp
- 目的片段的 GC 含量应为 40-60%
- 请尽量避免高重复区
- 避免目的片段包含明显的二级结构

RNA 模板

- 尽量使用高质量、高纯度的 RNA 模板，Luna qPCR 试剂盒与常见的核酸纯化方法制备的 RNA 兼容。
- 为了保持长时间的稳定性，制备的 RNA 应贮存在含 EDTA 的缓冲液中（例如 1X TE）
- 每次 qPCR 实验都需用 TE 或水现稀释模板
- 使用 DNase I（NEB #M0303）处理 RNA 样品，可以降低基因组污染导致的扩增
- 一般情况下，标样和未知样品有效浓度为 10^{-10} 个拷贝。注意，单拷贝级别的稀释，有的稀释样本可能包含多个拷贝，有的可能没有，这主要取决于泊松分布。对于总 RNA，Luna 一步法试剂盒可以进行超过 8 个梯度的线性定量，起始范围为 0.1 pg-1 μ g。对于大多数模板，推荐标准的起始范围 10 pg-100 ng。对于纯化的 mRNA，推荐起始量 ≤ 100 ng。对于体外转录 RNA，推荐起始量 ≤ 109 个拷贝。

引物

- 常规引物长度 15-30 nt
- 理想的引物 GC 含量为 40-60%
- 引物 Tm 应接近 60°C
- 使用 NEB 的 Tm calculator ([Tmcalculator.neb.com](https://www.neb.com)) 计算引物 Tm，选择“Hot Start Taq”设置
- 为了更准确的 qPCR 结果，引物对的 Tm 值相差应在 3°C 以内
- 避免形成引物内二级结构（如发夹结构）及引物二聚体
- 避免 ≥ 4 个 G 碱基重复的同聚体

- 染料法和探针法的最适引物浓度为 400 nM。如果需要，引物浓度可以在 100-900 nM 范围内调整

- 高引物浓度可能会导致引物二聚体和产生非特异扩增产物

- 使用软件设计引物时，尽可能多的输入目标周围区域序列，以便引物序列设计更加完善。使用条件检索功能，检索相关数据库互相参照以避免可能的非特异性扩增

- 建议引物设计跨两个已知的外显子区域来避免基因组 DNA 的扩增

水解探针

- 常规的探针长度为 15-30 nt，以保证荧光基团的有效淬灭
- 最适的探针浓度是 200 nM，但可以在 100-500 nM 之间调整
- 单淬灭或双淬灭探针均可使用
- 一般情况下，非荧光淬灭基团比荧光淬灭基团有更好的信噪比
- 理想探针的 GC 含量是 40-60%
- 探针的 Tm 应该比引物的 Tm 高 5-10°C，以保证在引物扩增前全部的目标序列与探针杂交
- 设计的探针应该退火到正义链或反义链上
- 一般情况下，探针应该退火到正向引物或反向引物的相邻位置，但不要有重叠区
- 避免 5' 端是 G 碱基，因为会淬灭 5'-荧光基团

多重扩增

- 避免引物和探针有互补序列，确保目的序列间没有重叠区
- 设计探针时，保证每个目的序列有唯一的用于检测的荧光基团
- 根据实时定量 PCR 设备的检测范围来选择荧光基团
- 荧光报告基团的发射光谱不能有重叠
- 在单重反应中检测每一组引物/探针组合，以设置一个基线标准。确保在多重 qPCR 时，有近似的 C_q 值。
- 高丰度目的序列搭配低强度荧光染料，低丰度目的序列搭配高强度荧光染料
- 高拷贝目的序列可能需要低浓度的引物/探

针，低拷贝目的序列则对应高浓度的引物/探针

反转录

- 默认反转录温度为 55°C
- 对于复杂模板，反转录温度可能需要增加到 60°C，温育 10 分钟
- 由于 Luna 反转录酶的温启动特性，不推荐反转录温度低于 50°C

循环条件

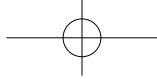
- 一般情况下，按照说明书中的循环条件即可达到最佳效果
- 可以进行较长片段扩增（ > 400 bp），但可能需要优化延伸时间
- 因为 Luna 试剂盒的热启动特性，使用前没有必要预热 PCR 仪
- 如有，可选择“Fast”变温速度（例如，Applied Biosystems QuantStudio®）
- 对于大多数情况，40 个循环是足够的，极低起始量的可以进行 45 个循环

建立反应

- 为了达到最佳结果，在热循环之前请将反应体系放在冰上
- 对于 96 孔板，推荐使用 20 μ l 反应体系。使用 384 孔板，推荐 10 μ l 反应体系
- 每一个样本应设置三个重复
- 保证每一个扩增子包含阴性对照（NTC）
- 设置无 Luna 反转录酶的对照，以确保 RNA 模板的特异性扩增，而不是污染基因组的扩增
- 为了避免交叉污染，热循环前加入 0.2 units/ μ l 南极热敏 UDG (NEB #M0372)，室温处理 10 分钟。
- Luna 的参比染料与多种仪器兼容（High-ROX, Low-ROX, ROX-independent），因此不需要额外的 ROX 进行标准化校正

检测评估

- 确保至少三个 10 倍梯度稀释模板的扩增效率达到 90-110%
- 相关系数 (R^2) ≥ 0.99
- 通过产物的长度、测序或溶解曲线分析确认其特异性



Luna 一步法 RT-qPCR 问题解决指南

问题	可能的原因	解决方案
qPCR 曲线显示低扩增效率或无扩增	反转录温度不正确或遗漏反转录步骤	• 常规应用中，Luna WarmStart 反转录酶的最佳反应温度是 55°C
	循环条件不正确	• 参考产品说明书设置合适的 RT-qPCR 循环条件
	漏加 RT-qPCR 的试剂	• 确保所有操作步骤是正确的
	误加 RT-qPCR 的试剂	• 确保正确的 qPCR 仪器荧光设置
	qPCR 设备通道选择错误	• 制备高质量的 RNA，排除 RNase、DNase 污染 • 确认模板的加入量 • 确保试剂盒在有效期内 • 根据说明书，确保正确的贮存条件 • 使用新配试剂重新运行 RT-qPCR 反应
三次重复的数据不一致	建立 RT-qPCR 反应时，移液操作不规范	• 确保规范的移液操作
	qPCR 板上的封口膜密封不好，引起孔内组分挥发。qPCR 结果显示其重复样本间的荧光值显著不同。	• 在放入 qPCR 仪器前，确保 qPCR 板完全密封 • 分析数据时去除有问题数据
	建立 RT-qPCR 反应时，试剂未混匀	• 试剂融化后，确保所有试剂完全混匀
	气泡会导致异常的 qPCR 曲线	• 避免 qPCR 板中存在气泡 • 在热循环前，将 qPCR 板离心 • 分析数据时去除有问题数据
DNA 标准曲线相关性差/扩增效率不在 90-110% 范围	循环条件不正确	• 参考产品说明书设置合适的 RT-qPCR 循环条件 • 反转录温度设为 55°C • 若使用 ABI 的仪器，设置 60°C 1 分钟的退火/延伸步骤
	qPCR 曲线异常	• 去除明显由于气泡、板密封及其它实验问题导致的异常数据
	建立 qPCR 反应时，移液操作不规范	• 确保规范的移液操作
	反应条件不正确	• 确保所有操作步骤是正确的
	气泡会导致异常的 qPCR 曲线	• 避免 qPCR 板中有气泡 • 在热循环前，将 qPCR 板离心
	试剂未混匀	• 试剂融化后，确保所有试剂完全混匀
低起始量时，溶解曲线显示多个峰	出现无模板扩增	• 比较 NTC 和样品的溶解曲线 • 重新设计 Tm 为 60°C 的引物，或者使用 Tm calculator 软件设置引物最佳退火温度 • 将引物进行矩阵分析，选择最适引物浓度
	极少情况下，单一物种的 DNA 变性分两个阶段，导致双峰形成	
无模板对照显示扩增，NTC C _q 值与低拷贝标准品接近或者重叠	操作时，试剂被以前 qPCR 的残留产物污染（NTC 溶解曲线与高起始量标样一致）	• 替换所有的储液和试剂 • 用 10% 的氯漂白剂处理设备和操作区 • 考虑使用 0.2 U/μl 南极热敏 UDG 去除残留产物污染
	引物产生的非特异性扩增（NTC 溶解曲线与高起始量标样不一致）	• 重新设计 Tm 为 60°C 的引物或使用 qPCR 引物设计软件
阴性对照有扩增	RNA 中有基因组 DNA 污染	• 使用 DNase I 处理样本 • 重新设计跨两个外显子区的引物



RNA 合成

RNA 合成

体外合成单链 RNA 是一种常见实验方法，对 RNA 研究和 RNA 药物至关重要。该技术应用广泛，研究人员可按需合成转录本，并同时引入修饰碱基。下游应用包括：在 RNA-蛋白质相互作用和结构分析中研究 RNA 的生化特性和分子表征、合成 RNA 适配体、合成用于表达的功能性 mRNA、合成用于基因表达调控的小 RNA（例如：gRNA、RNAi）。此外，体外转录还可用于 RNA 疫苗和 CRISPR/Cas9 基因编辑工具的开发、多能干细胞的生成、RNA 抑制剂的筛选以及基于 RNA 扩增的分子诊断。

对于体外转录来说，研究人员需要对每个反应组分进行优化，才能达到高产量和稳定的功效。NEB 提供五种体外 RNA 合成试剂盒，这些试剂盒均经过优化，可稳定合成高质量 RNA。此外，组成试剂盒的体外转录（IVT）试剂和 mRNA 加帽试剂也可单独购买。

NEB 的研究级别和 GMP 级别*产品可以支持您从实验室规模到商业规模的 mRNA 生产。优化的 HiScribe™ RNA 合成试剂盒可实现便捷的体外转录（IVT）流程。当需要扩大产能并优化反应组分时，我们可提供独立的 GMP 级别试剂，帮助您从基础科研无缝过渡到大规模治疗性生产。



了解更多 RNA 合成产品，请登录 **NEB** [neb.com](https://www.neb.com)，同时可下载 RNA 合成手册

*“GMP 级别”是 NEB 的品牌用语，用于描述由我公司位于美国马萨诸塞州 Rowley 市的工厂所生产的试剂。我们通过控制生产程序和过程，在更严谨的条件下生产试剂，以达到更高的产品标准，并符合 ISO9001 和 ISO13485 质量管理体系标准。NEB 不生产或销售活性药物成分（APIs），也没完全按照药品生产管理规范来生产其产品。

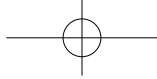
mRNA 合成流程及 NEB 相关产品

模板生成	体外转录		RNA 加帽	Poly (A) 加尾	RNA 纯化
Q5® High-Fidelity DNA Polymerase	HiScribe® T7 mRNA Kit with CleanCap® Reagent AG			Monarch® RNA Cleanup Kit (10 µg)	
	HiScribe T7 ARCA mRNA Synthesis Kit (with tailing)				
dNTP solution mixes	HiScribe T7 ARCA mRNA Synthesis Kit		E. coli Poly(A) Polymerase	Monarch RNA Cleanup Kit (50 µg)	
GMP COMING SOON BspQI*	GMP HiScribe T7 High Yield RNA Synthesis Components	GMP Vaccinia Capping System		Monarch RNA Cleanup Kit (500 µg)	
DNA Assembly - NEBuilder HiFi DNA Assembly - Golden Gate Assembly	HiScribe T7 Quick High Yield RNA Synthesis Kit	GMP mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase		Lithium Chloride	
	HiScribe SP6 High Yield RNA Synthesis Kit	ARCA and other mRNA cap analogs			
	T3 & SP6 RNA Polymerases				
	GMP T7 RNA Polymerase				
	Hi-T7 RNA Polymerase				
	Companion Products				
	GMP RNase inhibitor (Murine)			Monarch RNA Cleanup Binding Buffer	
	RNase Inhibitor (Human Placental)			Monarch RNA Cleanup Wash Buffer	
	GMP Pyrophosphatase, Inorganic (E. coli)			Nuclease-free Water	
	Pyrophosphatase, Inorganic (Yeast)				
	GMP DNase I (RNase-free)				
	NTPs				



= 可提供 GMP 级别试剂

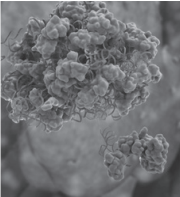
* NEB 可大规模生产含重组蛋白的限制性内切酶（BSA-free）



使用 Hiscribe 生产微量 RNA

HiScribe 高效 RNA 合成试剂盒是众多下游应用的理想选择

根据如下选择指南，选择适合您应用的试剂盒

	应用	T7 试剂盒					SP6 试剂盒
		Hiscribe T7 高效 RNA 合成试剂盒 (#E2040)	Hiscribe T7 快速高效 RNA 合成试剂盒 (#E2050)	Hiscribe T7 ARCA mRNA 试剂盒 (#E2065)	Hiscribe T7 ARCA mRNA 试剂盒 (加尾) (#E2060)	HiScribe™ T7 mRNA 合成试剂盒 (含 CleanCap® Reagent AG) (#E2080)	Hiscribe SP6 RNA 合成试剂盒 (#E2070)
探针标记	荧光标记：FAM、花青染料 (Cy) 等 • 荧光原位杂交 (FISH)		✓				✓
	非荧光标记：生物素、地高辛 • 原位杂交 • 二次检测点杂交 • 微阵列		✓				✓
	高比活性放射性同位素标记 • 杂交分析 • RNase 保护	✓					✓
mRNA 和 RNA 转染	用 ARCA 共转录加帽和酶法加 ploy (A) 尾的 mRNA 合成 • 转染 • 显微注射 • 体外翻译				✓		
	简化的 ARCA 带帽 RNA 合成 • 模板编码 Ploy (A) 尾 • 非多腺苷酰化转染 • 转染 • 显微注射 • 体外翻译			✓			
	用帽结构类似物共转录加帽 • 转染 • 显微注射 • 体外翻译		✓				✓
	用 CleanCap Reagent AG 共转录加帽 • 转染 • 显微注射 • 体外翻译					✓	
	用牛痘 mRNA 加帽系统进行后转录加帽 • 转染 • 显微注射 • 体外翻译	✓	✓				✓
	完全替代 NTPs：5-mC、假尿苷等	✓				✓	✓
	部分替代 NTP：5-mC、假尿苷等	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	未修饰的 RNA		✓				✓
	发夹结构、短 RNA、dsRNA • 基因敲除		✓				✓
结构、功能与结合研究	全部替代 NTP • 核酸适配体选择 • 同位素标记	✓					✓
	部分替代一种或多种 NTP • 核酸适配体选择 • 结构测定		✓				✓
	未修饰的 RNA • SELEX • 结构测定		✓				✓



合成向导 RNA 用于 CRISPR/Cas9 实验

Cas 核酸酶是 CRISPR 免疫机制的核心组成部分，这种机制可保护细菌或古细菌细胞免受病毒和外来 DNA 的入侵。CRISPRs（规律性间隔的短回文序列重复簇）是指由多个短重复序列组成的 DNA 位点，这些重复序列通过特定的“spacer DNA”间隔开。首先 CRISPR 位点被转录并加工成向导 RNAs（gRNAs），随后 gRNAs 与 Cas 核酸酶结合。spacer DNA 对应的 RNA 通过碱基互补配对引导 Cas 核酸酶到达目标片段；完成双链 DNA 的切割。

Cas 核酸酶在 gRNAs 的引导下可轻松对目标基因进行编辑，现已广泛应用于基因组工程。在细胞和动物中进行靶基因编辑，可通过 DNA 构建载体（质粒或病毒）表达核酸酶和 gRNA，也可以导入编码 Cas 核酸酶的 RNA 和 gRNA，还可直接引入 RNA-Cas 核酸酶复合体。

EnGen sgRNA 合成试剂盒，*S. pyogenes* 为转录 sgRNA 提供了一种简单快速的方法，使用试剂盒中的试剂和用户提供的特异 DNA 引物，仅需 30 min 即可获得高产量 sgRNA。

特色产品

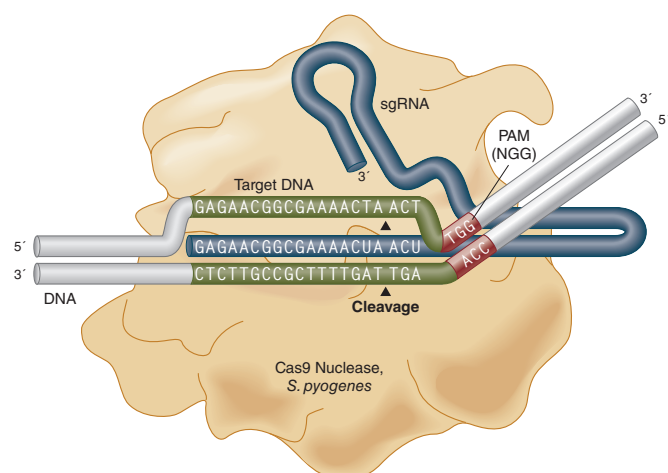
EnGen sgRNA 合成试剂盒，*S. pyogenes*
(NEB #E3322)

- 单管完成反应，缩短操作时间
- 合成 sgRNA 量高达 25 μ g
- 提供质控引物以便排查问题
- 节省试验成本

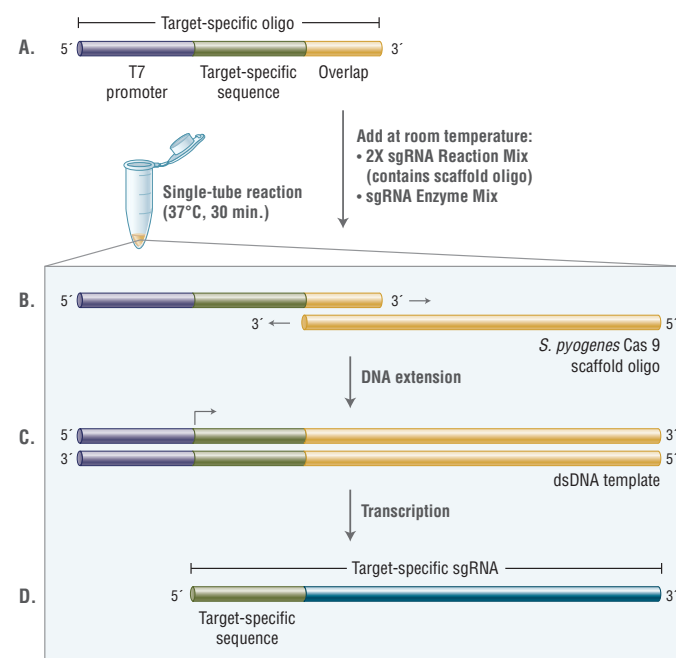
EnGen sgRNA 合成试剂盒，*S. pyogenes* 的实验流程

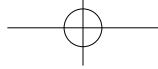


Spy Cas9 核酸酶识别和切割示意图



使用 EnGen 试剂盒可在 1 小时内完成 sgRNA 合成





您是否在设计研究方案？

NEB 在特异性酶和试剂方面具有非常丰富的产品线，助您在 RNA 研究中开发创新方案。例如，可以通过酶试剂对 RNA 进行修饰，其催化活性取决于特定结构，因此该方法为表征 RNA 类型的有效工具。RNA 修饰酶的偏嗜性使研究人员能够区分不同的 RNA 类型。使用适当的酶依次处理时，一些特殊末端修饰可用于选择性地降解或分离特定 RNA 类型。例如：含有 5'-帽结构的 RNA 不是多核苷酸激酶或 RNA 连接酶的底物，但可作为脱帽酶的催化底物。另外，RNA 3' 末端的连接和多聚腺苷酸化需要一个游离的 3'-OH。

特色产品：RNA 连接酶

NEB 提供多种具有不同活性的连接酶，以支持各种应用。

根据如下列表选择最适合您需求的 RNA 连接酶。

	RNA 连接酶							
	T4 RNA 连接酶 1 (#M0204)	T4 RNA 连接酶 2 (#M0239)	T4 RNA 连接酶 2, 截短型 (#M0242)	T4 RNA 连接酶 2, 截短型 K227Q (#M0351)	T4 RNA Ligase 2 Truncated KQ (#M0373)	5' App DNA/RNA 热稳定连接酶 (#M0319)	5' 腺苷化 试剂盒 (#E2610)	RtcB 连接酶 (#M0458)
RNA 应用								
连接 dsRNA 中的切刻		✓✓✓						
RNA 3' 末端标记	✓✓✓		✓	✓	✓	✓		
单链 RNA 与单链 RNA 连接	✓✓✓							
预腺苷化接头与 RNA 连接	✓✓		✓✓	✓✓	✓✓✓	✓✓		
5' 腺苷化							✓✓✓	
连接单链 RNA 的 3' 磷酸基和 5' 羟基								✓✓✓
DNA 应用								
预腺苷化接头与单链 DNA 连接						✓✓✓		
DNA/RNA 应用								
连接双链结构中 RNA 和 DNA		✓✓						
连接 RNA 和 DNA 的 3' 磷酸基和 5' 羟基								✓✓
二代测序应用								
二代测序文库制备中双链 DNA 和双链 DNA 连接								
二代测序文库制备中单链 RNA 和单链 DNA 连接	▲		▲	▲	▲	▲		
二代测序文库制备中单链 RNA 与双链接头		▲						
特性								
热稳定性						•	•	
重组酶	•	•	•	•	•	•	•	•
图例								
✓✓✓ 最佳选择	✓✓ 效果良好	✓ 可用于该应用，但不推荐使用	▲ 请查看二代测序实验流程说明，以确定满足实验要求的最佳用酶					



创新酶

NEB 目录着重介绍了多种在自然界中发现，或者为特定目的而改造的功能性酶。在分子生物学领域，新的研究工具通常会带来新的发现。得益于 NEB 在酶生物学领域的专业积累，越来越多的创新酶被研发出来，它们具有独特而引人注目的生物活性，可用于 DNA、RNA、蛋白和多糖的处理，有些酶的应用领域尚待开发。我们希望“创新酶”计划能够能够为科研人员抛砖引玉，开拓新的分子技术领域，引领新的发现。

特色产品

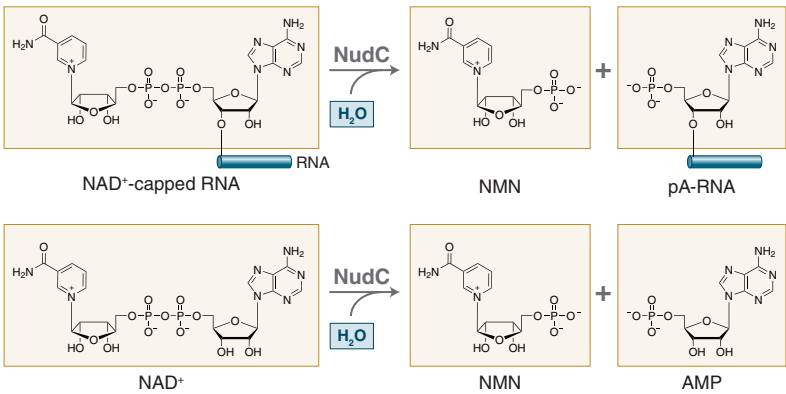
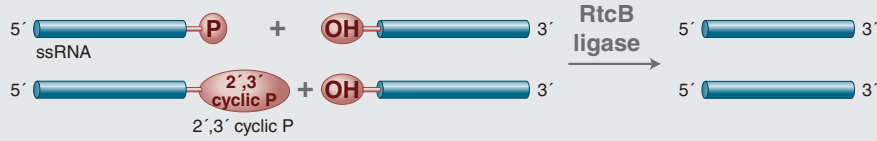
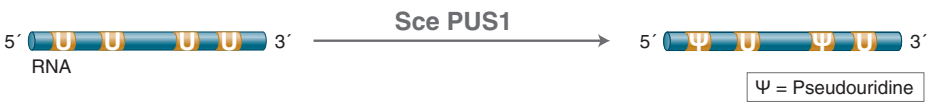
NudC 焦磷酸酶 (NEB #M0607)

RtcB 连接酶 (NEB #M0458)

Sce 假尿嘧啶合成酶 I (NEB #M0526)

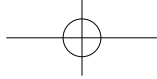


查看创新酶完整列表，
请登陆 www.neb.com/EnzymesForInnovation

产品名称	货号	特性
NudC 焦磷酸酶	M0607	 NudC 是一种 NUDIX 焦磷酸酶，可有效水解 NAD⁺ 和 NADH 加帽的 RNA，在 RNA 上生成可连接的 5' 单磷酸盐 (NAD⁺ 脱帽或脱 NAD)。
RtcB 连接酶	M0458	 单链 RNA 中的 3'-磷酸基或 2', 3'-环磷酸基团与另一个 RNA 的 5'-羟基进行连接
Sce 假尿嘧啶合成酶 I	M0526	 Sce 假尿嘧啶合成酶 I (Sce PUS1) 可将单链 RNA 中尿嘧啶转化为假尿嘧啶，对单链 RNA 中尿嘧啶的转化率高于双链 RNA。最佳底物为 ≥15 nt 无特殊结构的 RNA。

What are Enzymes
for Innovation?





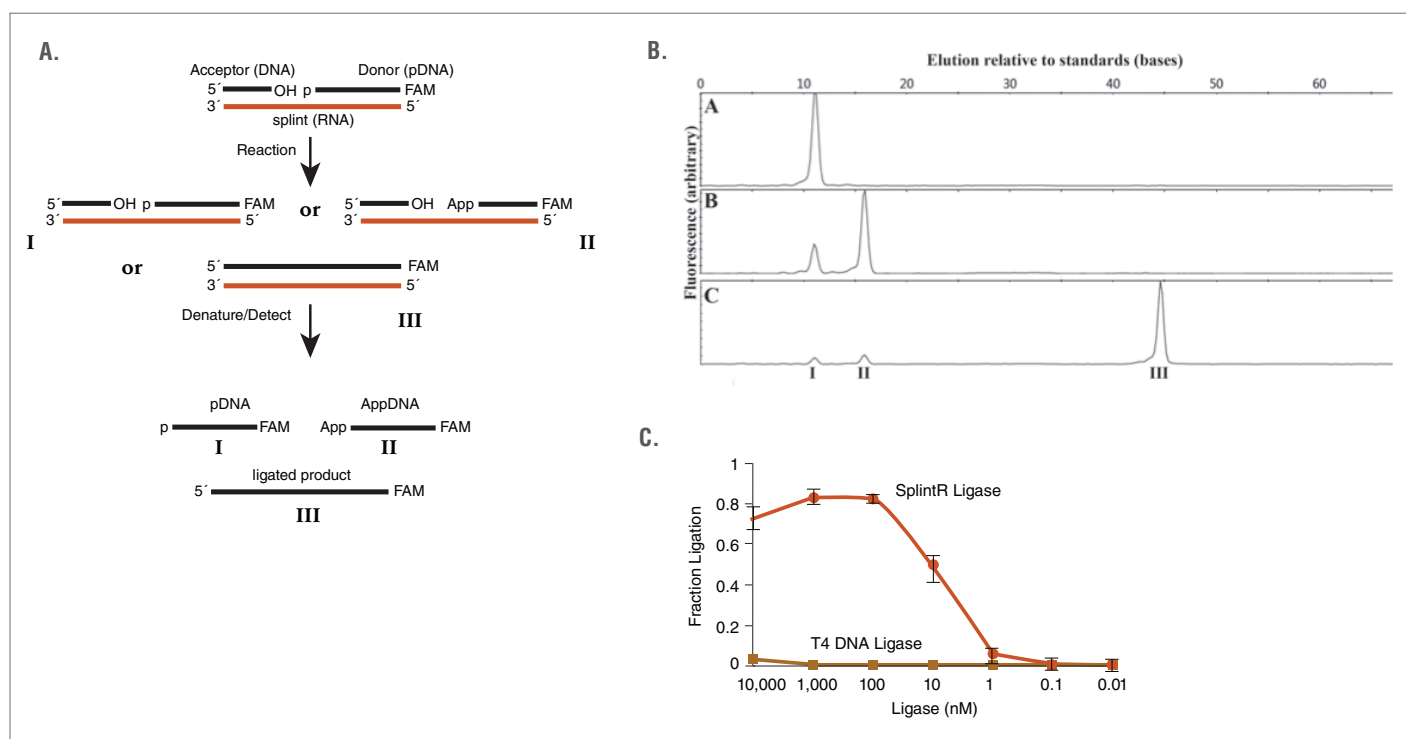
特色产品: SplintR 连接酶

我们可提供一系列 RNA 连接酶, 其中一些含有特殊活性, 如 SplintR 连接酶。该酶能够高效催化相邻的 DNA 核苷酸的连接, 这个连接过程需要一条互补的 RNA 在两条 DNA 单链间起“夹板”或“桥梁”的固定作用。这种以前未经报道过的活性能够推动 miRNA、mRNA 以及 SNPs 研究方法的创新。在二代测序和分子诊断等众多领域中, SplintR 是富集目的基因的理想选择。它具有稳定的生物活性, 对 RNA 介导固定的 DNA 底物亲和性强 (米氏常数 $K_m = 1 \text{ nM}$), 能够在复杂的混合物中检测到亚纳摩尔级的特定 RNA。因此, SplintR 连接酶为 RNA 检测技术的理想选择。



了解更多 SplintR 连接酶信息, 请登录 neb.com/NEBTVwebinars

通过 RNA 搭桥连接 DNA



(A) 连接分析的概要: 5' 磷酸化、3'-FAM 标记的 DNA “供体” 寡核苷酸和未修饰的 DNA “受体” 寡核苷酸通过于两者互补的 RNA 退火, 形成搭桥。该底物与连接酶反应, 形成的混合物含有: 未反应的起始样品 (I)、腺苷酸化 DNA (II) 和连接产物 (III)。这些产品经变性后, 使用毛细管电泳分离, 并通过荧光检测。(B) 将 RNA 搭桥底物置于 SplintR 连接酶反应缓冲液中, 25°C 孵育 15 分钟: (a) 无酶, (b) 1 μM T4 DNA 连接酶, (c) 100 nM SplintR 连接酶。指示的峰对应产物 (通过标准品确定): 起始 pDNA (I)、AppDNA (II)、连接产物 (III)。(C) 使用不同浓度的 SplintR 连接酶或 T4 DNA 连接酶 (10 pM-10 μM 浓度) 进行连接, 25°C 孵育 15 分钟, 并对连接产物进行分析。结果显示: 在对 RNA 搭桥 DNA 的连接方面, SplintR Ligase 明显比 T4 DNA Ligase 效率高。

订购信息

RNA合成

产品名称	货号	规格
HiScribe T7 mRNA Kit with CleanCap Reagent AG	E2080S	20 reactions
HiScribe T7 Quick High Yield RNA Synthesis Kit	E2050S	50 reactions
HiScribe T7 High Yield RNA Synthesis Kit	E2040S	50 reactions
HiScribe SP6 RNA Synthesis Kit	E2070S	50 reactions
HiScribe T7 ARCA mRNA Kit	E2065S	20 reactions
HiScribe T7 ARCA mRNA Kit (with tailing)	E2060S	20 reactions
T3 RNA Polymerase	M0378S	5,000 units
T7 RNA Polymerase	M0251S/L	5,000/25,000 units
SP6 RNA Polymerase	M0207S/L	2,000/10,000 units
Hi-T7 RNA Polymerase	M0658S	5,000 units
<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	M0276S/L	100/500 units
Poly(U) Polymerase	M0337S	60 units
<i>E. coli</i> RNA Polymerase, Core Enzyme	M0550S	100 units
<i>E. coli</i> RNA Polymerase, Holoenzyme	M0551S	50 units
Ribonucleotide Solution Set	N0450S/L	10/50 µmol of each
Ribonucleotide Solution Mix	N0466S/L	10/50 µmol of each
Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	M0361S/L	10/50 units
Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	M2403S/L	10/50 units
Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	M0296S/L	250/1,250 units
mRNA Decapping Enzyme	M0608S	2,000 units
Vaccinia Capping System	M2080S	400 units
Anti-Reverse Cap Analog 3'-O-Me-m ⁷ G(5')ppp(5')G	S1411S/L	1/5 µmol
Standard Cap Analog m ⁷ G(5')ppp(5')G	S1404S/L	1/5 µmol
Unmethylated Cap Analog G (5')ppp(5')G	S1407S/L	1/5 µmol
Methylated Cap Analog for A + 1 sites m ⁷ G(5')ppp(5')A	S1405S/L	1/5 µmol
Unmethylated Cap Analog for A + 1 sites G(5')ppp(5')A	S1406S/L	1/5 µmol
mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase	M0366S	2,000 units
3'-Desthiobiotin-GTP	N0761S	0.5 µmol

cDNA 合成

产品名称	货号	规格
ProtoScript II Reverse Transcriptase	M0368S/L/X	4,000/10,000/40,000 units
M-MuLV Reverse Transcriptase	M0253S/L	10,000/50,000 units
AMV Reverse Transcriptase	M0277S/L	200/1,000 units
WarmStart RTx Reverse Transcriptase	M0380S/L	50/250 reactions
ProtoScript II First Strand cDNA Synthesis Kit	E6560S/L	30/150 reactions
ProtoScript First Strand cDNA Synthesis Kit	E6300S/L	30/150 reactions

RNA 检测

产品名称	货号	规格
Luna Universal qPCR Master Mix	M3003S/L/X/E	200/500/1,000/2,500 reactions
Luna Universal Probe qPCR Master Mix	M3004S/L/X/E	200/500/1,000/2,500 reactions
Luna Universal One-Step RT-qPCR Kit	E3005S/L/X/E	200/500/1,000/2,500 reactions
Luna Universal Probe One-Step RT-qPCR Kit	E3006S/L/X/E	200/500/1,000/2,500 reactions

RNA 检测（续）

产品名称	货号	规格
Luna Probe One-Step RT-qPCR Kit (No ROX)	E3007E	2,500 reactions
LunaScript RT SuperMix Kit	E3010S/L	25/100 reactions
LunaScript RT Master Mix Kit (Primer-free)	E3025S/L	25/100 reactions
Luna Probe One-Step RT-qPCR 4X Mix with UDG	M3019S/L/X/E	200/500/1,000/2,500 reactions
Luna SARS-CoV-2 RT-qPCR Multiplex Assay Kit	E3019S/L	96/480 reactions

RNA 连接酶 & 修饰酶

产品名称	货号	规格
T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase)	M0204S/L	1,000/5,000 units
T4 RNA Ligase 1 (ssRNA Ligase), high concentration	M0437M	5,000 units
T4 RNA Ligase 2 (dsRNA Ligase)	M0239S/L	150/750 units
T4 RNA Ligase 2, truncated	M0242S/L	2,000/10,000 units
T4 RNA Ligase 2, truncated K227Q	M0351S/L	2,000/10,000 units
T4 RNA Ligase 2, truncated KQ	M0373S/L	2,000/10,000 units
RtcB Ligase	M0458S/L	25 reactions
Thermostable 5' AppDNA/RNA Ligase	M0319S/L	10/50 reactions
5' DNA Adenylation Kit	E2610S/L	10/50 reactions
SplintR Ligase	M0375S/L	1,250/6,250 units
RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH)	M0356S	200 units
5' Deadenylase	M0331S	1,000 units
RNase I ₁	M0243S/L	5,000/25,000 units
RNase H	M0297S/L	250/1,250 units
RNase HII	M0288S/L	250/1,250 units
Quick Dephosphorylation Kit	M0508S/L	100/500 units
Antarctic Phosphatase	M0289S/L	1,000/5,000 units
Alkaline Phosphatase Calf Intestinal (CIP)	M0290S/L	1,000/5,000 units
Shrimp Alkaline Phosphatase (rSAP)	M0371S/L	500/2,500 units
T4 Polynucleotide Kinase	M0201S/L	500/2,500 units
ShortCut RNase III	M0245S/L	200/1,000 units
XRN-1	M0338S/L	20/100 units
Exonuclease T	M0265S/L	250/1,250 units
NudC Pyrophosphatase	M0607	250 pmol
Sce PUS1	M0526	5,000 pmol

gRNA 合成

产品名称	货号	规格
EnGen sgRNA Synthesis Kit, <i>S. pyogenes</i>	E3322S	20 reactions

RNA 控制

产品名称	货号	规格
RNase Inhibitor, Murine	M0314S/L	3,000/15,000 units
RNase Inhibitor, Human Placenta	M0307S/L	2,000/10,000 units
Ribonucleoside Vanadyl Complex	S1402S	10 ml (200 mM)

二代测序 RNA 文库制备

产品名称	货号	规格
NEBNext Single Cell/Low Input RNA Library Prep Kit for Illumina	E6420S/L	24/96 reactions
NEBNext Single Cell/Low Input cDNA Synthesis & Amplification Module	E6421S/L	24/96 reactions
NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina	E7760S/L	24/96 reactions
NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep with Sample Purification Beads	E7765S/L	24/96 reactions
NEBNext Ultra II RNA Library Prep Kit for Illumina	E7770S/L	24/96 reactions
NEBNext Ultra II RNA Library Prep with Sample Purification Beads	E7775S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina (Set 1)	E7300S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina (Set 2)	E7580S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Small RNA Library Prep Kit for Illumina (Index Primers 1-48)	E7560S	96 reactions
NEBNext Small RNA Library Prep Set for Illumina (Multiplex Compatible)	E7330S/L	24/96 reactions
NEBNext rRNA Depletion Kit v2 (Human/Mouse/Rat)	E7400S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext rRNA Depletion Kit v2 (Human/Mouse/Rat) with RNA Sample Purification Beads	E7405S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext rRNA Depletion Kit (Bacteria)	E7850S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext rRNA Depletion Kit (Bacteria) with RNA Sample Purification Beads	E7860S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext Globin & rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat)	E7750S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext Globin & rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat) with RNA Sample Purification Beads	E7755S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext RNA Depletion Core Reagent Set	E7865S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext RNA Depletion Core Reagent Set with RNA Sample Purification Beads	E7870S/L/X	6/24/96 reactions
NEBNext Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module	E7490S/L	24/96 reactions
NEBNext Library Quant Kit for Illumina	E7630S/L	100/500 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Index Primers Set 1)	E7335S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Index Primers Set 2)	E7500S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Index Primers Set 3)	E7710S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Index Primers Set 4)	E7730S/L	24/96 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (96 Index Primers)	E6609S/L	96/384 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Dual Index Primers Set 1)	E7600S	96 reactions

二代测序 RNA 文库制备（续）

产品名称	货号	规格
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Dual Index Primers 2)	E7780S	96 reactions
NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (96 Unique Dual Index Primer Pairs)	E6440S/L	96/384 reactions
NEBNext Singleplex Oligos for Illumina	E7350S/L	12/60 reactions
DNase I	S1402S	10 ml (200 mM)

RNA 提取 & 纯化

产品名称	货号	规格
Monarch Total RNA Miniprep Kit	T2010S	50 preps
Monarch RNA Lysis Buffer	T2012L	100 ml
Monarch RNA Priming Buffer	T2013L	56 ml
Monarch RNA Wash Buffer	T2014L	50 ml
Monarch Collection Tubes II	T2018L	100 tubes
Monarch RNA Purification Columns	T2007L	100 columns
Monarch DNA/RNA Protection Reagent	T2011L	56 ml
Monarch Total RNA Miniprep Enzyme Pack (contains DNase I, Prot K, and associated buffers)	T2019L	1 pack
Monarch RNA Cleanup Kit (10 µg)	T2030S/L	10/100 preps
Monarch RNA Cleanup Kit (50 µg)	T2040S/L	10/100 preps
Monarch RNA Cleanup Kit (500 µg)	T2050S/L	10/100 preps
Monarch RNA Cleanup Binding Buffer	T2041L	80 ml
Monarch RNA Cleanup Wash Buffer	T2042L	40 ml
Monarch RNA Cleanup Columns (10 µg)	T2037L	100 columns and tubes
Monarch RNA Cleanup Columns (50 µg)	T2047L	100 columns and tubes
Monarch RNA Cleanup Columns (500 µg)	T2057L	100 columns and tubes
Magnetic mRNA Isolation Kit	S1550S	25 isolations
Epimark N6-Methyladenosine Enrichment Kit	E1610S	20 reactions
Oligo d(T) ₂₅ Magnetic Beads	S1419S	25 mg
Oligo d(T) ₂₅ Cellulose Beads	S1408S	250 mg
Streptavidin Magnetic Beads	S1420S	5 ml (20 mg)
Hydrophilic Streptavidin Magnetic Beads	S1421S	5 ml (20 mg)
polyA Spin mRNA Isolation Kit	S1560S	8 isolations
p19 siRNA Binding Protein	M0310S	1,000 units

RNA Markers & Ladders

产品名称	货号	规格
dsRNA Ladder	N0363S	25 gel lanes
microRNA Marker	N2102S	100 gel lanes
ssRNA Ladder	N0362S	25 gel lanes
Low Range ssRNA Ladder	N0364S	25 gel lanes
RNA Loading Dye (2X)	B0363S	4 ml
Universal miRNA Cloning Linker	S1315S	0.83 nmol

NEB (北京)
客服及技术支持
客服电话: 400-811-2220/400-690-3366
电话: 010-82378266
传真: 010-82378262
e-mail: support@neb-china.com
网址: www.neb-china.com
官方微信: NEBiolabs

美国
New England Biolabs, Inc.
Telephone (978) 927-5054
Toll Free (USA Orders) 1-800-632-5227
Toll Free (USA Tech) 1-800-632-7799
info@neb.com

澳大利亚 / 新西兰
New England Biolabs (Australia) PTY
Telephone: 1800 934 218 (AU)
info.au@neb.com
Telephone: 0800 437 209 (NZ)
info.nz@neb.com

加拿大
New England Biolabs, Ltd.
Toll Free: 1-800-387-1095
info.ca@neb.com

法国
New England Biolabs France
Telephone: 0800 100 632
info.fr@neb.com

德国 / 奥地利
New England Biolabs GmbH
Free Call: 0800/246 5227
(Germany)
Free Call: 00800/246 52277
(Austria)
info.de@neb.com

日本
New England Biolabs Japan, Inc.
Telephone: +81 (0)3 5669 6191
info.jp@neb.com

新加坡
New England Biolabs, Pte. Ltd.
Telephone: +65 638 59623
sales.sg@neb.com

英国
New England Biolabs (UK), Ltd.
Call Free: 0800 318486
info.uk@neb.com



www.neb.com

One or more of these products are covered by patents, trademarks and/or copyrights owned or controlled by New England Biolabs, Inc. For more information, please email us at busdev@neb.com. The use of these products may require you to obtain additional third party intellectual property rights for certain applications.

Your purchase, acceptance, and/or payment of and for NEB's products is pursuant to NEB's Terms of Sale at www.neb.com/support/terms-of-sale. NEB does not agree to and is not bound by any other terms or conditions, unless those terms and conditions have been expressly agreed to in writing by a duly authorized officer of NEB.

B CORPORATION™ is a trademark of B Lab, Inc. CLEANCAP® is a registered trademark of TriLink BioTechnologies, LLC. CLONTECH® is a registered trademark of Clontech Laboratories. SMART-SEQ® is a registered trademark of Illumina, Inc. NEXTERA® is a registered trademark of FPL Group, Inc. KAPA® is a registered trademark of Kapa Biosystems. ZYMOLYASE® is a registered trademark of Zymo Research. CLEAN AND CONCENTRATOR™ is a trademark of Zymo Research. SYBR® is a registered trademark of Molecular Probes, Inc. AGILENT® and BIOANALYZER® is a registered trademark of Agilent Technologies, Inc. TAQMAN® and NANODROP® are a registered trademarks of ThermoFisher Scientific, Inc. TRIZOL® is a registered trademark of Molecular Research Center, Inc. ILLUMINA®, MISEQ® and NEXTSEQ® a registered trademark of Illumina, Inc.

© Copyright 2021, New England Biolabs, Inc.; all rights reserved



NEB 视频学习站



NEB 微信公众号



NEB 技术资料站

RNA_TG – Version 4.0 – 10/21



Download the **NEB AR App** for iPhone® or iPad®. Scan the augmented reality butterfly icon located on the corner of the page to find videos, tutorials and immersive experiences.

RNA Markers & Ladders

