

▶ RT-RamDA[®]法による NGS解析用ライブラリー調製キット ◀

NEW

GenNext[®] Shin-RamDA-seq[®] Single Cell Stranded Kit

シングルセルや 微量RNAに対応

1~100細胞または10pg~1ng
total RNAからcDNAの調製が
可能です

Poly(A) RNAだけでなく Total RNAの解析が可能

non-poly(A)RNA (lncRNA,
pre-mRNA, circRNAなど)や
分解したRNAにも使用できます

RNA全長をカバーした 解析が可能

長鎖RNAやスプライシングバリエ
アントが正確に解析できます

NEW 方向性情報を維持し より正確な解析が可能

アンチセンスやオーバーラップ
遺伝子を明確に見つけること
ができます

- ◆ 既存法に比べ、検出遺伝子数アップ!
- ◆ ライブラリー調製試薬内包のため、cDNA合成からシーケンスまでをトータルサポート

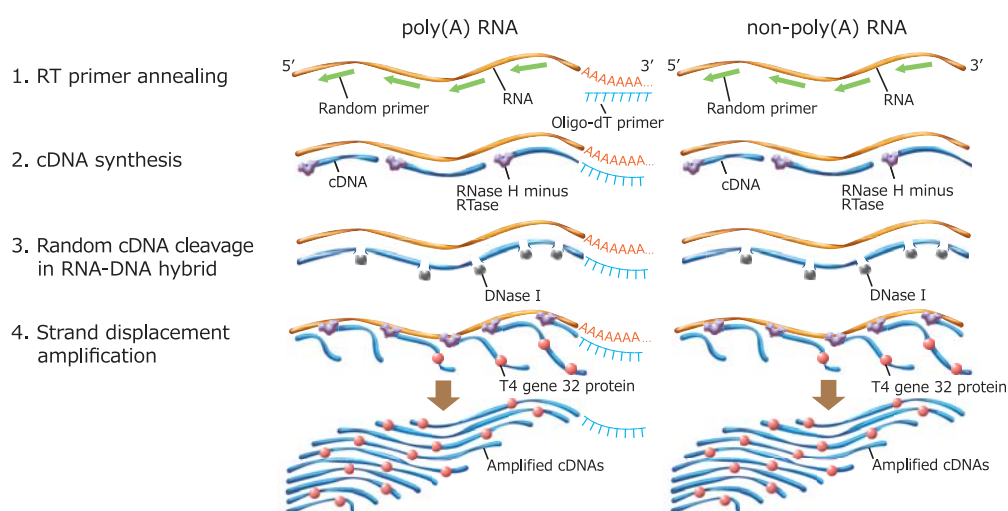
RT-RamDA[®] 法は理化学研究 生命機能科学研究センター バイオインフォマティクス研究開発チームが開発した「Reverse Transcription with Random Displacement Amplification」の略で、逆転写酵素の鎖置換活性を利用した新規cDNA増幅方法です。

RamDA-seq[®] (Random Displacement Amplification sequencing) は、RT-RamDA[®] 法を応用したRNAシーケンス法であり、random primer(あるいはNSR primer*)を使用するため、poly(A)配列以外からもcDNA合成を行うことができ、non-poly(A) RNAも検出可能です。また、これらのprimerがRNAのさまざまな場所に結合しcDNA合成が開始されるため、RNA全長からシーケンスリードを得ることができます。

Shin-RamDA-seq[®] 法 (Stranded High-Sensitivity Random Displacement Amplification sequencing) は、RamDA-seq[®]を改良したもので、RamDA-seq[®]の特長にくわえ、方向性情報の維持が可能になりました。

* NSR Primerとは、Not so random primerの略で、18S、28S RNA遺伝子に完全にマッチする配列を計算上除外したrandom primerのことです。random primerの代わりにNSR Primerを用いることで、rRNAからのcDNA合成を抑制できます。

RT-RamDA[®] 原理



ワークフロー



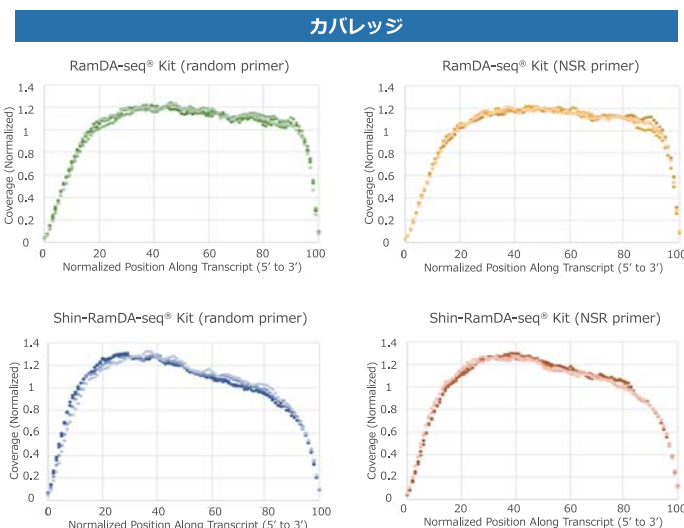
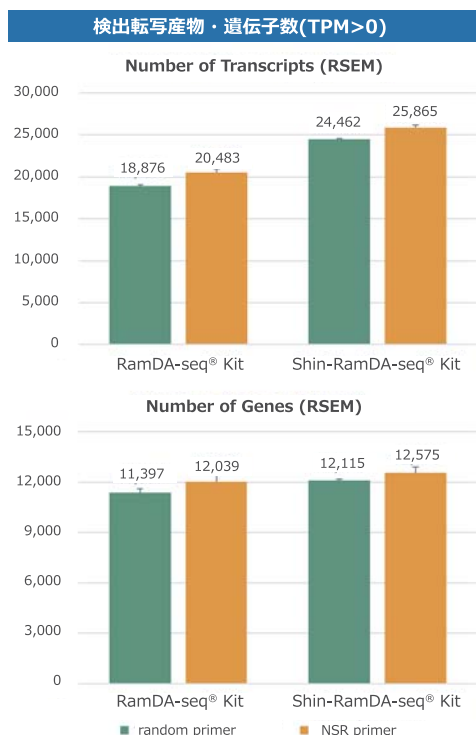
* 1 本試薬の他に、磁性ビーズ：Agencourt[®] AMPure[®] XP試薬 (ベックマンコールター社) および ライブラリー調製試薬：Nextera[®] XT DNA Sample Preparation Kit, Index Kit (イルミナ社) が必要です。

* 2 本試薬の他に、磁性ビーズ：Agencourt[®] AMPure[®] XP試薬 (ベックマンコールター社) および アダプター：TruSeq[®] DNA Single Indexes (イルミナ社) が必要です。

実施例 1 NIH3T3細胞の解析 (Shin-RamDA-seq® KitとRamDA-seq® Kitの比較)

1細胞に平均化したマウス由来NIH3T3細胞からライブラリー調製を行い、RNA-Seq 解析に供し、検出転写産物・遺伝子数、平均カバレッジ、マッピング率、rRNA率、ストランド解析率について解析しました。RNA-Seqにはイルミナ社 MiSeq® を使用しました。

Shin-RamDA-seq® Kitでは高いストランド解析率を示し、RNAの方向性情報が維持されました。またShin-RamDA-seq® Kitでは試薬組成を最適化したことで、RamDA-seq® KitよりもrRNA率が低く、検出遺伝子数はRamDA-seq® Kitより優れた結果が得られました。またNSR Primerを用いることでrRNA率を下げ、より検出遺伝子数を増やすことができました。

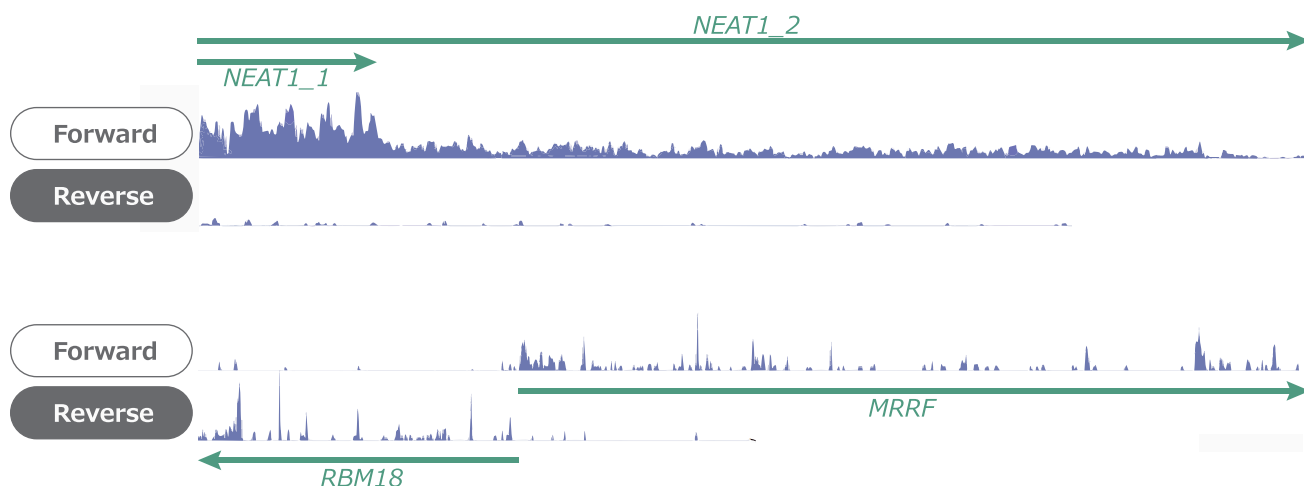


	マッピング率	rRNA率	ストランド解析率
RamDA-seq® Kit (random primer)	89.72%	35.52%	-
RamDA-seq® Kit (NSR primer)	90.92%	22.20%	-
Shin-RamDA-seq® Kit (random primer)	91.54%	28.57%	97.24%
Shin-RamDA-seq® Kit (NSR primer)	90.50%	11.47%	96.94%

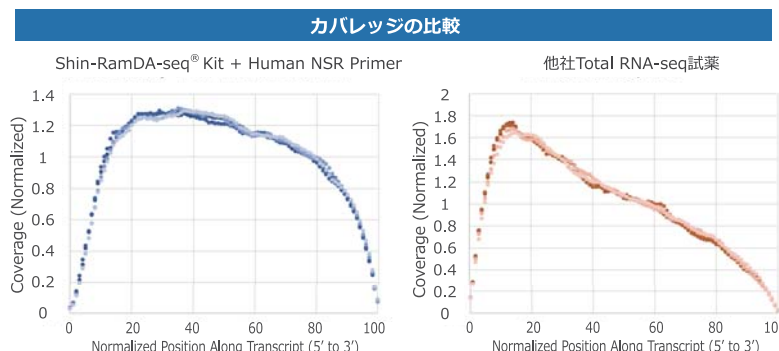
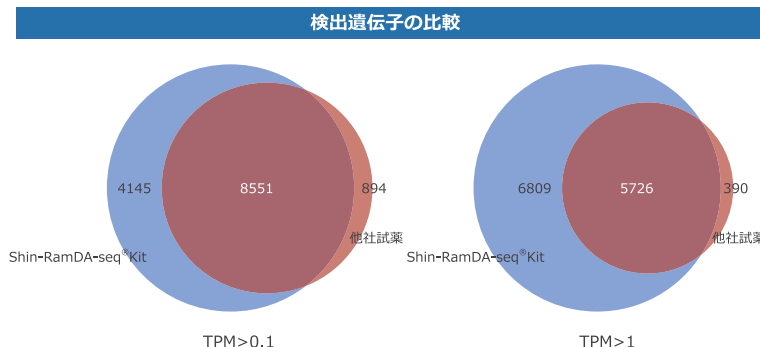
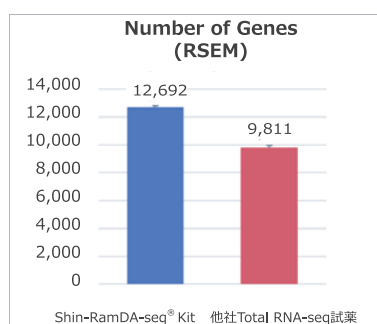
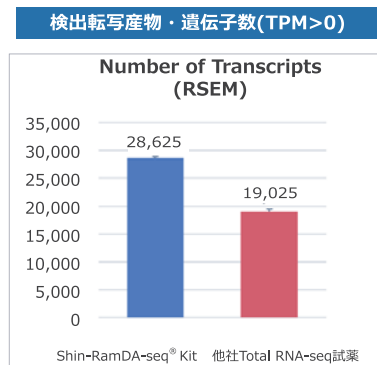
*TPM (Transcripts Per Million) : 各転写産物のリードカウントに対して遺伝子長が1,000bpとなるように補正した後、各サンプルの総リード数をすべて100万に揃えた数値

実施例 2 Shin-RamDA-seq® Kitを用いたリードカバレッジ

平均化したヒト白血病細胞株K562細胞1細胞分からライブラリーを調製してRNA-seq解析を行い、Millefy*を用いてカバレッジを確認しました。Shin-RamDA-seq® Kitを使用したシングルセル解析で、20kb程度の長さを持つNEAT1_2 全長のカバレッジが確認でき、NEAT1_1、NEAT1_2 のアイソフォームを解析できました。また方向性情報が維持されており、逆向きに転写されることが知られているMRRF とRBM18 においても明確な解析が可能でした。



Shin-RamDA-seq® Kitおよび他社対応Total RNA-seq試薬を用い、1細胞に平均化したヒト由来K562細胞からライブラリー調製を行いました。イルミナ社 MiSeq®を用いてNGS解析を行い、検出転写産物数・遺伝子、カバレッジを比較した結果、Shin-RamDA-seq® Kitの方が高い検出転写産物・遺伝子数を示し、カバレッジにおいてもShin-RamDA-seq® Kitの方が偏りのない結果が得られました。



発売記念キャンペーン：2023年9月4日(月)～2024年3月29日(金)【ご注文分】

品 名	包装	Code No.	通常価格(税別)	キャンペーン価格(税別)
GenNext® Shin-RamDA-seq® Single Cell Stranded Kit *1	24回用	RML-101T	¥ 158,000	¥ 110,600 30% off
	96回用	RML-101	¥ 568,000	¥ 397,600 30% off
NSR Primer Set for human	96回用	NSR-101	¥ 24,000	—
NSR Primer Set for mouse	96回用	NSR-201	¥ 24,000	—
GenNext® RamDA-seq® Single Cell Kit *2	24回用	RMD-101T	¥ 118,000	¥ 82,600 30% off
	96回用	RMD-101	¥ 398,000	¥ 278,600 30% off
RamDA Cell Lysis Kit *3	1,152回用	RMD-301	¥ 12,000	—

*1 ライブラリー調製試薬を含みます。*2 ライブラリー調製試薬は含んでおりません。

保存温度：-20℃

*3 Code No. RMD-101, 101Tに含まれる細胞溶解試薬の外包装タイプです。RML-101, 101Tとの互換性はありません

※ RT-RamDA®, RamDA-seq®, Shin-RamDA-seq®は理化学研究所の登録商標です。

本資料に記載しているその他の会社名および商品名・ロゴマークなどは、各社の商号、商標または登録商標です。

TOYOBO

東洋紡株式会社

バイオプロダクト営業部

(E-mail) order_lifescience@toyobo.jp

(大阪) 〒530-0001

大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号

大阪梅田ツインタワーズ・サウス

TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833

(東京) 〒104-8345

東京都中央区京橋一丁目17番10号

住友商事京橋ビル

TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951

テクニカルライン

(E-mail) tech_osaka@toyobo.jp

TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833

(9:00～12:00 13:00～17:00[土日祝日、休日を除く])

WEBサイト

[https://lifescience.toyobo.co.jp/]



toyobo公式x