



RNA増幅キット

超微量を「次世代」へ!

次世代シーケンサー用

Ovation® RNA-Seq System

- 超微量サンプルからRNA-Seq解析!!
- 増幅前のrRNA Reduction不要!!
- 同一産物でQPCR・マイクロアレイ可能

好評のOvation®シリーズ、
ついに各社の次世代シーケンサーに
対応しました!



本キットを用いたRNA-Seq解析

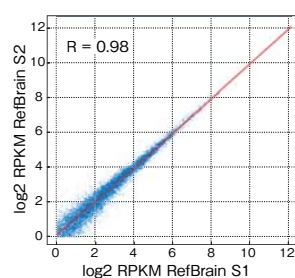
2種類のtotal RNAサンプルを500 pg用いてIllumina社 Genome Analyzer IIxで解析した。

Brain: Human Brain Reference RNA
UHR: Universal Human Reference RNA

Parameter	Brain 1	Brain 2	Brain 3	平均
Total Reads	21201900	20541551	24854509	22199320
% Unique Reads	48.0	49.1	45.8	47.6
% Mapped Reads	73.0	74.5	69.3	72.3
% rRNA	2.9	3.2	2.8	3.0
# RefSeq Genes	3416939	3449399	3795738	3554025
Parameter	UHR 1	UHR 2	UHR 3	平均
Total Reads	20340793	26163192	26647866	24383950
% Unique Reads	47.5	44.9	44.9	45.8
% Mapped Reads	73.7	69.5	69.4	70.9
% rRNA	4.0	3.3	3.2	3.5
# RefSeq Genes	3831489	4051334	4098186	3827003

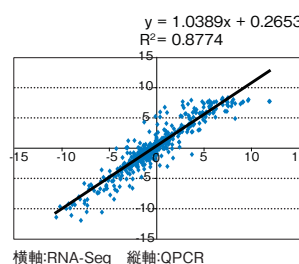
RNA-Seq解析においてUnique Readが平均45%超、Mapped Readsが平均70%以上となった一方で、Ribosomal RNAを非常に低い水準(約3%)に抑えることができた。

同一キットでの再現性の検証



10 ngのtotal RNAサンプル (Human Reference Brain RNA) を本キットで増幅し、Illumina社Genome Analyzer IIxで解析を行った結果、 $R=0.98$ と、高い再現性が得られることを確認した。

他手法との比較



10 ngのtotal RNAサンプル (Human Reference Brain RNA) を本キットで増幅し、Illumina社Genome Analyzer IIxで解析し、Life Technologies社TaqMan®を用いたQPCRデータと比較して一致性の検証を行った。

本検証で、本キットを用いRNA-Seq解析した結果は、QPCRの結果と高い相関性を示した。

QPCRデータについてはShi, L. et al.による論文 (Nature Biotechnology, 2006 24(9):1151-1161) をもとにした。

概要

Ovation® RNA-Seq Systemは、超微量なRNAサンプルからの遺伝子発現解析を可能にしたOvation®シリーズの一つです。本キットにより、total RNA 500 pg～100 ngという超微量なRNAサンプルから、短時間で簡単にマイクログラムオーダーの二本鎖cDNAを増幅・合成し、各社の次世代シーケンサーでRNA-Seq解析を行うことが可能になります。超微量な臨床サンプルや分解の進んだRNAサンプルなど、様々な理由により次世代シーケンサー向きではないと考えられていたサンプルからでも解析を行うことが可能となります。

特長

増幅産物をそのまま次世代シーケンサーでRNA-Seq解析するだけでなく、QPCRで増幅確認やマイクロアレイなどに用いることも可能です。凍結による一時保存など、様々な要望・状況に柔軟に対応することも可能です。

また、rRNA Reductionしなくても増幅産物のrRNA含有率は非常に低く抑えられます。

原理

NuGEN Technologies社が開発したRibo-SPIA®増幅技術により、下記3ステップで、わずか500 pgのtotal RNAサンプルからマイクログラムオーダーの二本鎖cDNAを約6時間で合成することができます。

1) First Strand cDNA合成

poly Tあるいはランダム配列を含む独自のDNA/RNAキメラプライマーと逆転写酵素により、First Strand cDNAを完成

2) Second Strand cDNA合成・精製

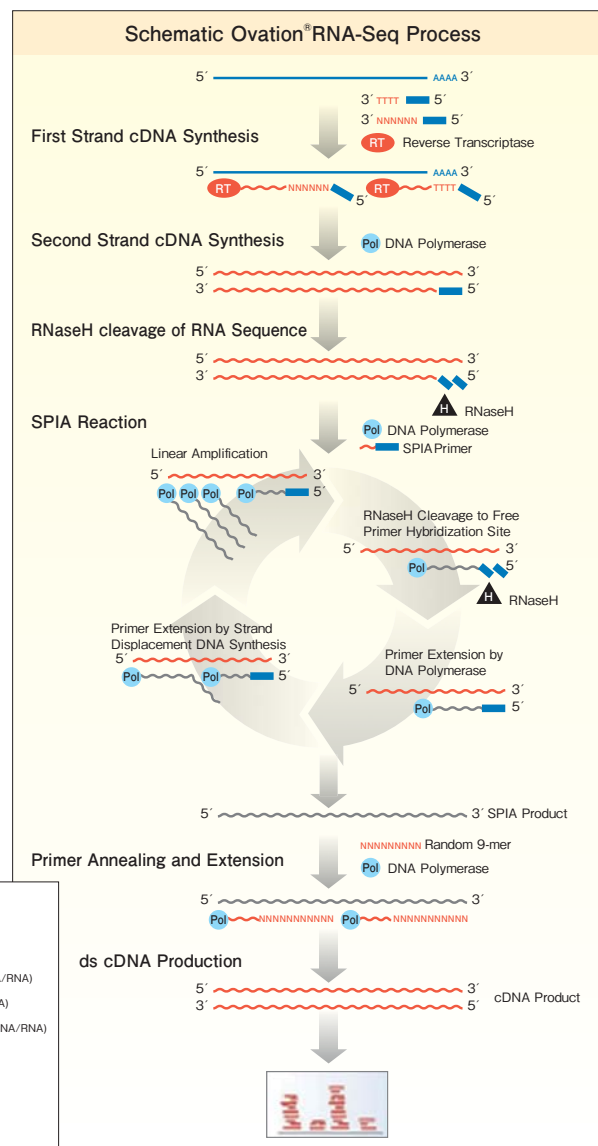
RNAを断片化した後、DNAポリメラーゼによりDNA/RNA heteroduplex DNAを合成

3) SPIA®反応で一本鎖cDNA合成

RNase HおよびDNAポリメラーゼを用いて、一定温度でリニアにDNAを増幅（アンチセンス鎖合成）

4) Post-SPIA®反応で二本鎖cDNA合成

ランダムプライマーを用いて、センス鎖を合成し二本鎖cDNAを作成



ご注文方法

下記販売代理店までお問い合わせください。

Ovation, SPIAはNuGEN Technologies社の登録商標です。また、TaqManはLife Technologies社の登録商標です。



NuGEN Technologies社は、研究や臨床検査の分野で利用可能な高感度のRNA増幅および検出技術を開発している米国の企業です。



■関西ラボ
〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町1-5-2
キメックセンタービル7階
TEL 078-306-1836 FAX 078-306-1837

販売代理店