

▶ 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
- FFPE由来の分解RNAやPolyAをもたない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ーションが正確に解析できます
- 方向性情報を維持しより正確な解析が可能 **NEW**  
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合成からライブラリー構築までをトータルサポート

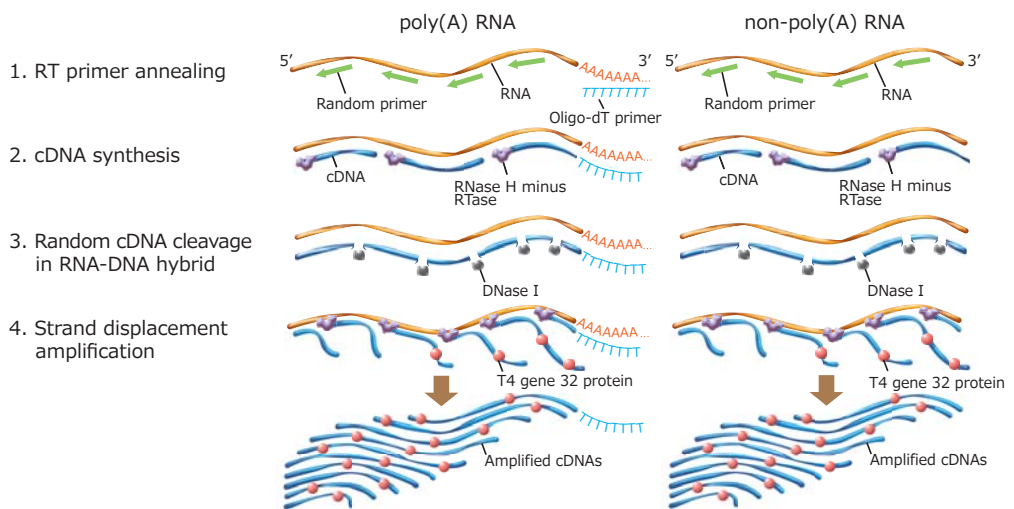
**RT-RamDA<sup>®</sup>** 法は理化学研究 生命機能科学研究センター バイオインフォマティクス研究開発チームが開発した「Reverse Transcription with **R**andom **D**isplacement **A**mplification」の略で、逆転写酵素の鎖置換活性を利用した新規cDNA増幅方法です。

**RamDA-seq<sup>®</sup>** (**R**andom **D**isplacement **A**mplification **s**equencing) は、RT-RamDA<sup>®</sup> 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。

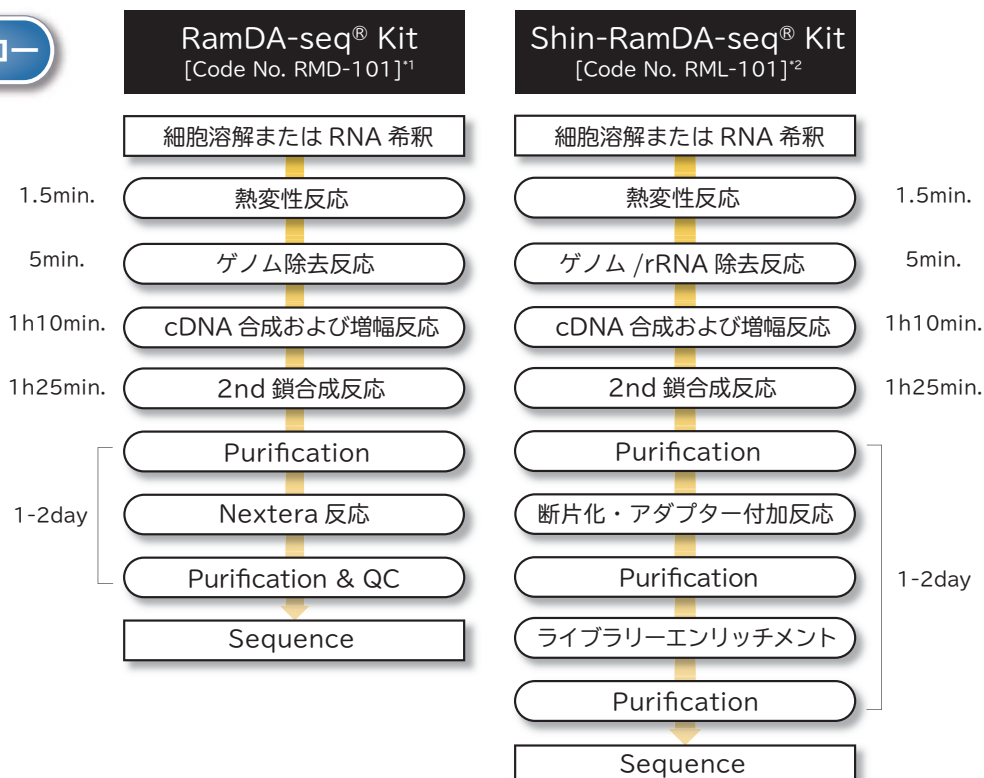
**Shin-RamDA-seq<sup>®</sup>** 法 (**S**tranded **H**igh-Sensitivity **R**andom **D**isplacement **A**mplification **s**equencing) は、RamDA-seq<sup>®</sup>を改良したもので、RamDA-seq<sup>®</sup>の特長にくわえ、方向性情報の維持が可能になりました。

\* 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<sup>®</sup>**  
原理



**ワークフロー**



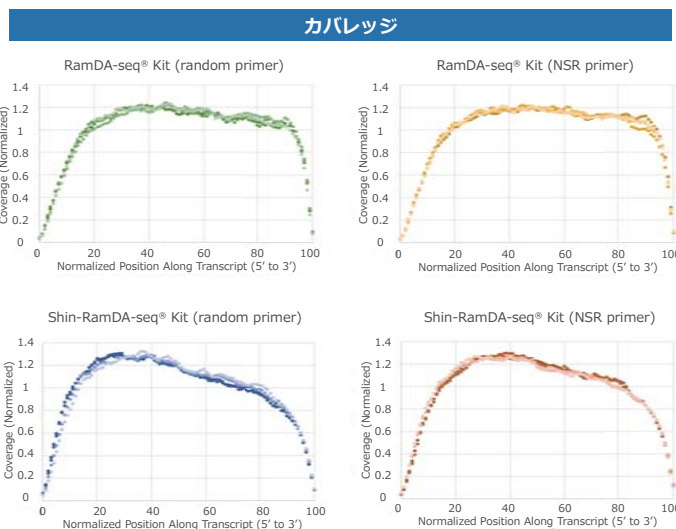
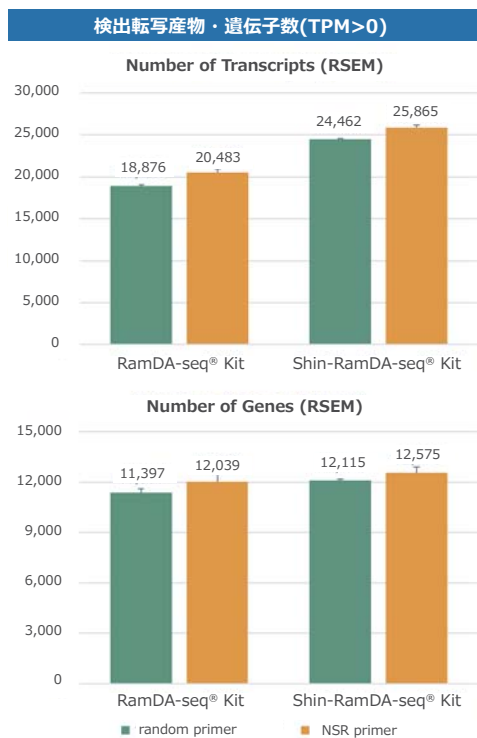
\*1 本試薬の他に、磁性ビーズ：Agencourt<sup>®</sup> AMPure<sup>®</sup> XP試薬 (ベックマンコルター社) および ライブラリー調製試薬：Nextera<sup>®</sup> XT DNA Sample Preparation Kit, Index Kit (イルミナ社) が必要です。

\*2 本試薬の他に、磁性ビーズ：Agencourt<sup>®</sup> AMPure<sup>®</sup> XP試薬 (ベックマンコルター社) および アダプター：IDT for Illumina<sup>®</sup> TruSeq<sup>®</sup> DNA UD Indexes v2 (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にはイリミナ社 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。



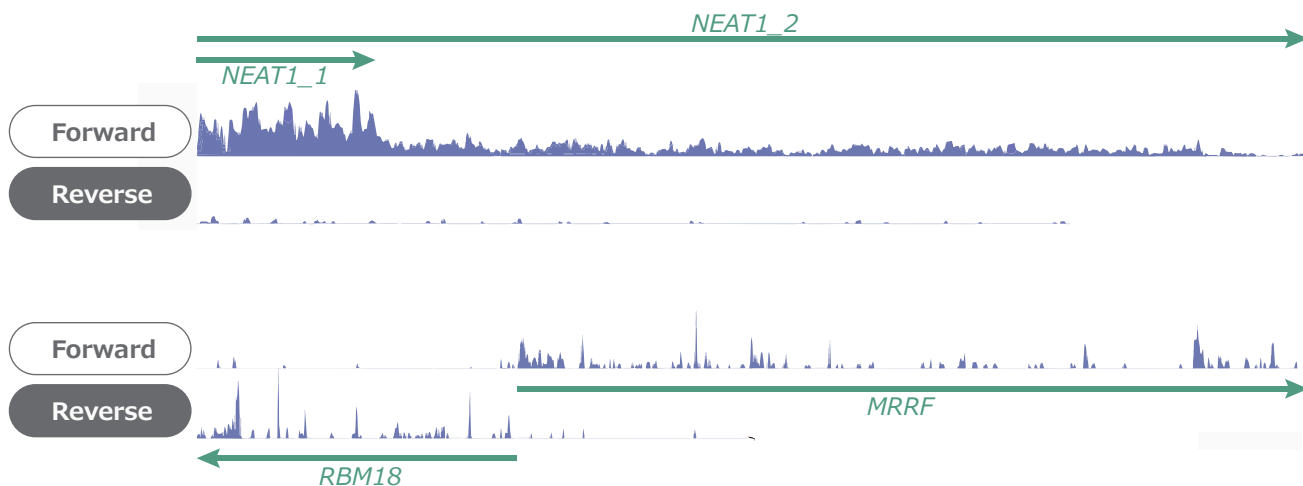
	マッピング率	rRNA率	ストランド解析率
RamDA-seq® Kit (random primer)	89.72%	35.52%	-
RamDA-seq® Kit (NSR primer)	90.92%	22.20%	-
Shin-RamDA-seq® Kit (random primer)	91.54%	28.57%	97.24%
Shin-RamDA-seq® Kit (NSR primer)	90.50%	11.47%	96.94%

\*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

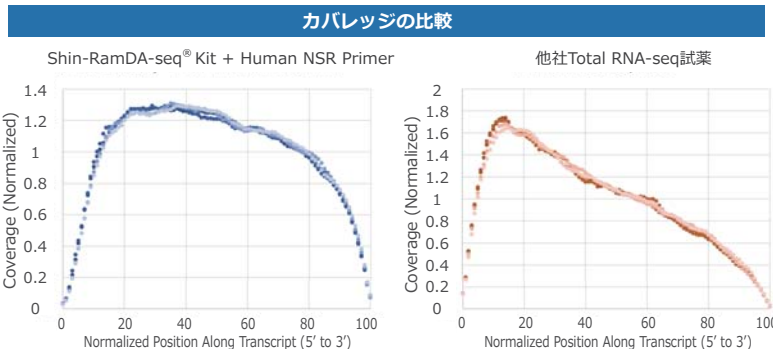
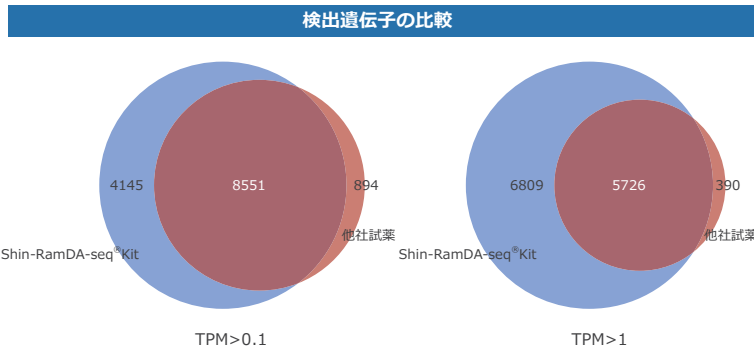
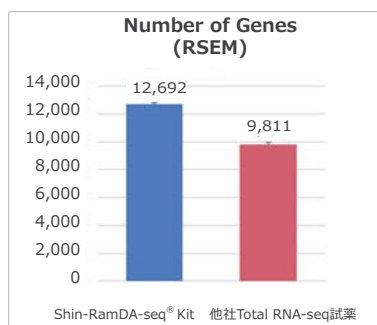
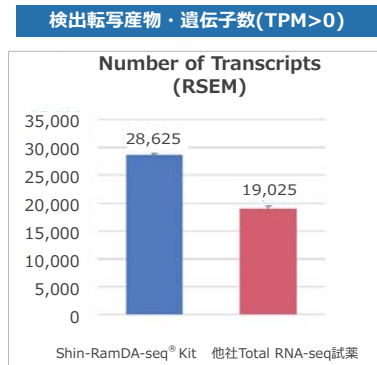
平均化したヒト白血病細胞株K562細胞1細胞分からライブラリーを調製してRNA-seq解析を行い、Millefy\*を用いてカバレッジを確認しました。Shin-RamDA-seq® Kitを使用したシングルセル解析で、20kb程度の長さを持つNEAT1\_2 全長のカバレッジが確認でき、NEAT1\_1、NEAT1\_2 のアイソフォームを解析できました。また方向性情報が維持されており、逆向きに転写されることが知られているMRRF とRBM18 においても明確な解析が可能でした。

\*Millefy : 1細胞RNAシーケンスのリードカバレッジの細胞間変動 (細胞ごとのばらつき) を可視化するソフトウェア。



## 実施例 3 K562細胞の解析 (Shin-RamDA-seq®と他社試薬の比較)

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。



品名	包装	Code No.	価格(税別)
GenNext® Shin-RamDA-seq® Single Cell Stranded Kit *1	24回用	RML-101T	¥ 158,000
	96回用	RML-101	¥ 568,000
NSR Primer Set for human	96回用	NSR-101	¥ 24,000
NSR Primer Set for mouse	96回用	NSR-102	¥ 24,000
GenNext® RamDA-seq® Single Cell Kit *2	24回用	RMD-101T	¥ 118,000
	96回用	RMD-101	¥ 398,000
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。

\*3 Code No. RMD-101, 101Tに含まれる細胞溶解試薬の大包装タイプです。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。

その他の本資料に記載している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。

保存温度：-20℃

**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