

皮克级链特异性RNA-Seq完整解决方案

SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit-Pico Input Mammalian

- 皮克级样品起始—可以250 pg–10 ng人，小鼠或大鼠总RNA起始
- 多能—可以多种组织样品（包括FFPE和LCM样品）和不同品质RNA制备文库，获得高重复再现数据
- 保留链来源信息—转录本链来源信息识别准确度高
- 快速，一体化流程—整体流程只需~5 h
- 无缝衔接Illumina测序—直接制备Illumina®-ready文库

5h内即可制备Illumina®-ready链特异性测序文库：

完美结合随机引物起始法，SMART技术&LNA技术及全新的核糖体cDNA去除技术，可以制备包含编码和非编码RNA信息的高代表性文库。

表现出色：

可以在皮克级样品起始的情况下，获得高灵敏度、高重复再现性结果，并且适用样品范围广泛。

简介

链特异性总RNA-Seq是RNA-Seq中的重要应用，通过链特异性测序可以区分重叠基因边界，进行全面基因注释和定量长非编码RNAs。传统的总RNA-Seq文库制备方案通常需要100 ng–1 ug较高的RNA起始量，并且在cDNA合成和文库制备之前需要从总RNA中去除rRNA。对于微量样品，如激光显微切割样品RNA，很难获得10 ng起始样品，并且rRNA去除过程会进一步增加样品损失，导致文库质量下降。Clontech注重提供微量样品解决方案，SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit Pico-Input Mammalian采用全新的Zap R R-Probes核糖体cDNA去除技术，在合成全长cDNA文库后去除rRNA来源的cDNA，可以250 pg–10 ng不同品质哺乳动物总RNA起始，5小时内即可构建Illumina®-ready cDNA文库。

随机引物起始，捕获全转录组信息

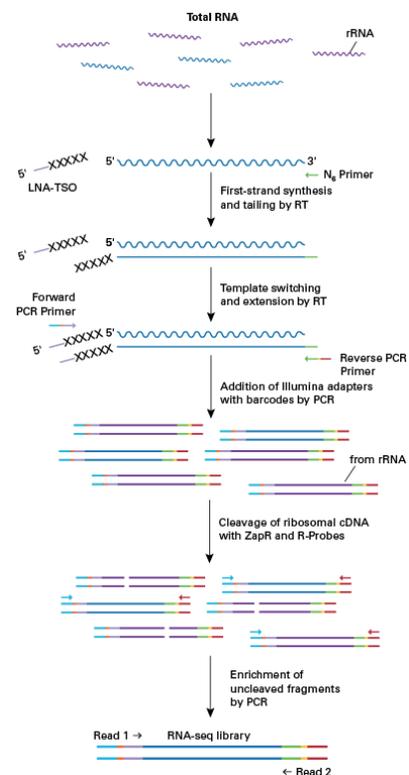
与oligo dT引物相比，随机引物可以获得代表性更全面的转录组信息，同时更适用于降解样品。随机引物可以捕获编码和非编码RNA，这对于基因表达、调控研究和人类疾病研究尤为重要。

SMART，LNA和核糖体RNA去除技术确保获得高灵敏度链特异文库

结合了SMART (Switching Mechanism At 5' end of RNA Template) 技术和LNA (Locked Nucleic Acid) 技术，提高了模板转换反应稳定性，同时带有方向信息的模板转换反应保留了RNA的链来源信息。

不同样品、不同起始量都表现出色

为检测SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit Pico-Input Mammalian在超出推荐起始范围的表现，分别使用100 pg–10 ng的小鼠脑部总RNA制备文库，每个起始量2个技术重复。

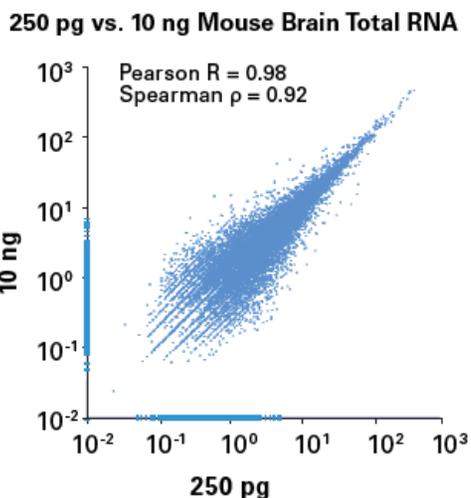




100 pg-10 ng总RNA起始测序数据								
RNA样品	小鼠脑部总RNA							
起始量 (ng)	10		1		0.25		0.1	
文库产量 (ng/ul)	10.5	14.8	9.93	8.3	6.91	7.48	5.76	7.26
读段数 (millions)	2.6 (双端测序)							
转录本数量 FPKM>1	12,714	12,709	12,744	12,725	12,540	12,615	12,286	12,528
皮尔逊/斯皮尔曼相关系数	0.99/0.93		0.99/0.93		0.98/0.92		0.97/0.90	
每个生物学注释链识别准确率 (%)	97.7	97.7	97.7	97.7	97.7	97.7	97.7	97.6
总读段比例 (%)								
外显子	22.6	22.8	23.4	23.5	23.3	23.1	23.1	22.8
内含子	35.6	35.7	35.3	36.2	35.9	35.5	36.1	35.1
基因间区	8.3	8.2	8.2	8.2	8.0	8.0	7.8	7.8
rRNA	11.2	10.5	10.8	9.9	9.7	9.7	8.8	9.5
线粒体	8.8	8.7	8.3	8.5	8.3	8.4	7.5	7.9
重复率 (%)	12.8	12.5	17.3	17.8	31.3	28.8	44.2	40.2

不同RNA起始量情况下，测序指标一致。分别使用100 pg-10 ng的小鼠脑部总RNA制备RNA-Seq文库，每个起始量2个重复。“PCR1”所有的文库都进行5轮扩增，“PCR2”对于10 ng, 1ng, 250 pg和100 pg文库分别进行10,13,15和16轮PCR扩增。

从上表可以看出不同起始量的情况下，测序数据非常相似。FPKM>1 (Fragments Per Kilobase Of Exon Per Million Reads) 的转录本数量超过12,000，并且保留了链来源信息。读段中比对到核糖体cDNA的比例在~9%到12%之间，不进行核糖体cDNA去除的情况下，比对到核糖体cDNA的比例~67% (数据未展示)。以250 pg和10 ng RNA 起始制备的文库具有高度一致性 (散点图，下图)。

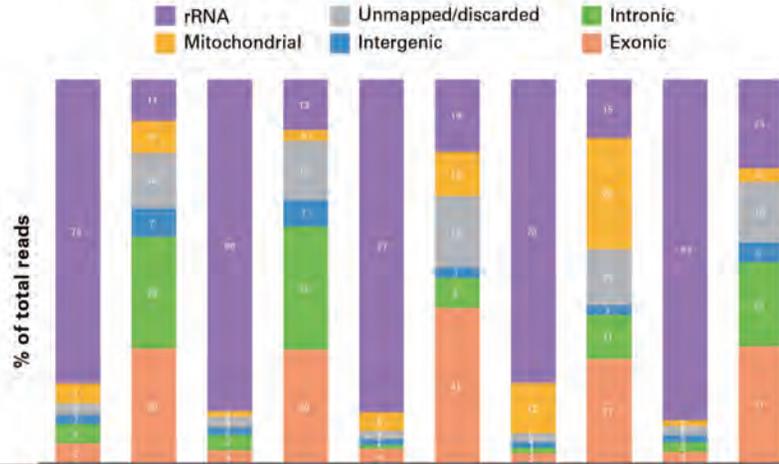


推荐起始量范围内均可获得高复再现性结果。对采用250 pg和10 ng小鼠脑部总RNA制备的文库的FPKMs进行比较分析。FPKM数值显示为对数标尺。只在其中一个文库中表现的转录本在图中表现为沿X轴和Y轴的散点。



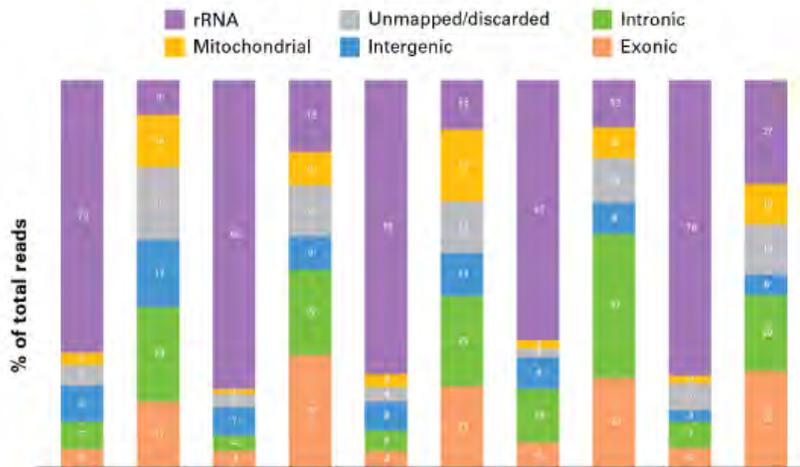
SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit Pico-Input Mammalian采用的核糖体cDNA高效去除技术适用于多种组织（人脑、胚胎、骨骼肌、心脏和脾脏；大鼠脑、肝脏和肾脏；小鼠脑和肝脏）。分别采用R-Probes切割核糖体cDNA或不切割处理样品制备文库。在处理的情况下，比对到rRNA的读段数量显著降低，约占总读段数的10-30%，不同的组织间有所不同（见下表）。同时，对转录本识别有用的读段数（外显子）得到了5-10倍的提升。

Distribution of Reads in Libraries from Human Tissues



组织类型	脑		胎盘		骨骼肌		心脏		脾脏	
核糖体cDNA去除	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
文库产量 (ng/ul)	18.1	5.2	10.2	3.7	11.5	2.4	9.9	3.8	10.6	3.2
转录本数量FPKM>1	12,581	15,693	9,079	13,095	6,619	11,879	7,667	14,448	9,900	15,798
每个生物学注释链识别准确率 (%)	97.6	97.6	97.8	97.8	98.5	98.5	98.4	98.4	98.3	98.1

Distribution of Reads in Libraries from Rodent Tissues

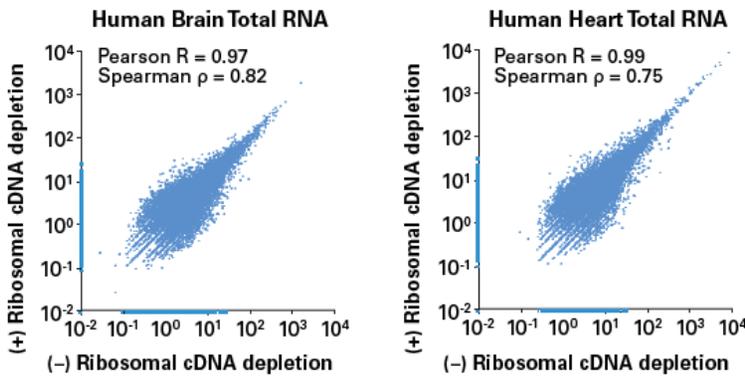


动物	大鼠						小鼠			
组织类型	脑		肝脏		肾脏		脑		肝脏	
核糖体cDNA去除	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
文库产量 (ng/ul)	18.7	4.3	20.8	2.7	18.8	3.7	15.8	14.2	18.0	5.2
转录本数量FPKM>1	8,618	12,477	5,645	10,647	7,939	13,197	10,465	12,627	8,001	10,922

提升了人、啮齿类动物组织中外显子对比率和转录本识别数量。分别采用250 pg人总RNA和250 或500 pg大鼠、小鼠总RNA制备文库，对未经R-Probes处理（-）和处理（+）文库的各读段分布情况进行分析。



全新的核糖体cDNA去除技术可以在有效维持基因代表性的同时，显著提高低于10 ng RNA起始的基因检测数。分别对人脑部和心脏R-Probes处理和非处理文库进行比较分析，我们可以看到处理和未处理文库具有高度的一致性（散点图）。这表明核糖体cDNA去除技术特异针对rRNA，没有显著的脱靶效应。

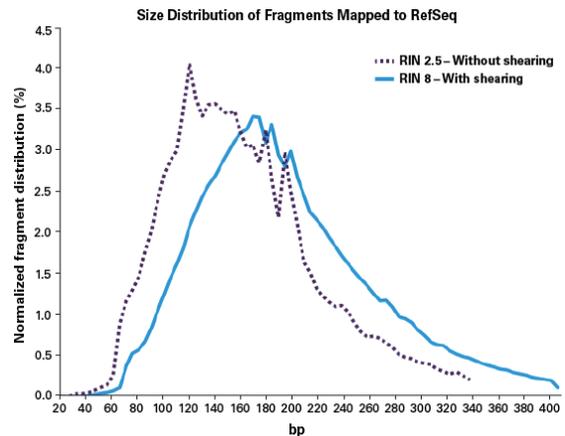


核糖体cDNA去除和非去除文库具有高度一致性。分别采用250 pg人脑部或心脏总RNA制备文库，对经过核糖体cDNA去除(+)和非去除(-)处理(如分别经过或非经过R-Probes处理)文库的FPKMs进行比较分析。FPKM数值显示为对数标尺。只在其中一个文库中表现的转录本在图中表现为沿X轴和Y轴的散点。

不同质量样品的完整解决方案

与其他的SMARTer Stranded Kits一样，SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit Pico-Input Mammalian整合了RNA剪切流程，可以使RNA片段化以适应Illumina测序平台要求。同时也提供了非剪切流程用于已片段化或降解样品。可以有效捕获~100 nt以上的RNA片段（下图），是微量降解样品的理想选择。

高效捕获降解RNA。右图是以250 pg高品质(RIN8)或高度降解人总RNA(RIN 2.5)分别按照SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit Pico-Input Mammalian中4 min剪切操作流程(RIN 8)或非剪切流程(RIN 2.5)进行文库制备后插入片段的分布情况。RNA-Seq文库采用Illumina MiSeq®平台进行双端测序。对于特定长度插入片段的比对数量与文库中总比对片段数量进行了均一化处理。排除了比对到rRNA和线粒体基因组的片段。



综上，SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit Pico-Input Mammalian是针对皮克级哺乳动物总RNA微量样品，进行链特异性测序文库制备的完整解决方案。SMART技术&LNA技术和核糖体rRNA去除技术，确保可以在250 pg-10 ng推荐范围内获得稳定、可靠的结果，同时，实验显示在100 pg起始的情况下也可获得理想结果。本试剂兼容高质量、部分降解和低品质RNA，可以获得稳定、重复再现性好的结果，并且适用样品类型广泛。5小时内，可以来源于多种样品和品质的微量总RNA起始制备Illumina®-ready文库，用于编码和非编码RNA分析，是新一代RNA-Seq文库制备的重大进步。

产品编号	产品名称	规格
635005	SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit - Pico Input Mammalian	12rxn
635006	SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit - Pico Input Mammalian	48rxn
635007	SMARTer® Stranded Total RNA-Seq Kit - Pico Input Mammalian	96rxn

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可及注册商标信息请在本公司网站上确认：<http://www.clontech.com/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。