

锐博生物 lncRNA 研究策略

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度在 200nt 以上, 不编码蛋白的 RNA 分子。起初 lncRNA 被认为是 RNA 聚合酶 II 转录的副产物, 不具有生物学功能。最近几年的研究表明 lncRNA 具有保守的二级结构, 可以与蛋白、DNA 和 RNA 相互作用, 参与多种生物学过程的调控, 如染色质修饰、转录激活或抑制、转录后调控以及作为 miRNA 的诱导分子干扰基因的表达等, 因此 lncRNA 是一片非常广阔的未知领域, 具有极大的研究价值和意义。

研究思路:

1

差异 lncRNA 筛选

- 新一代测序: 去核糖体 RNA 法富集 lncRNA 后建库测序

2

生物信息分析

- lncRNA 表达差异分析
- 新 lncRNA 预测
- lncRNA-mRNA 共表达分析
- lncRNA 功能预测

3

体外实验功能验证

- 功能获得性研究: 过表达载体
- 功能缺失性研究: siRNA, Smart Silencer, ASO
- lncRNA 检测: qPCR, FISH
- lncRNA 功能验证: RNA pull-down, CLIP-seq, ChIRP-seq, RIP-seq 等
- 基因编辑: CRISPR-Cas9 系列产品

4

体内实验验证

- 构建动物模型
- 导入过表达载体、siRNA 或 ASO
- 检测动物表型变化, 生化指标和相关基因表达

lncRNA 测序

RNA 测序是 lncRNA 研究方案中的重要环节,通过 lncRNA 测序,可以发现潜在的 lncRNA 研究目标,并对后续的功能研究有重要的指导意义。锐博生物通过去 rRNA 方法,富集大部分 lncRNA 后建库测序,可用于分析 lncRNA 和 mRNA 的表达情况并发现大量新的 lncRNA。

结合在 lncRNA 研究领域多年的经验,根据提取方式、建库难度和类型不同,锐博生物提供多种 lncRNA 测序服务:

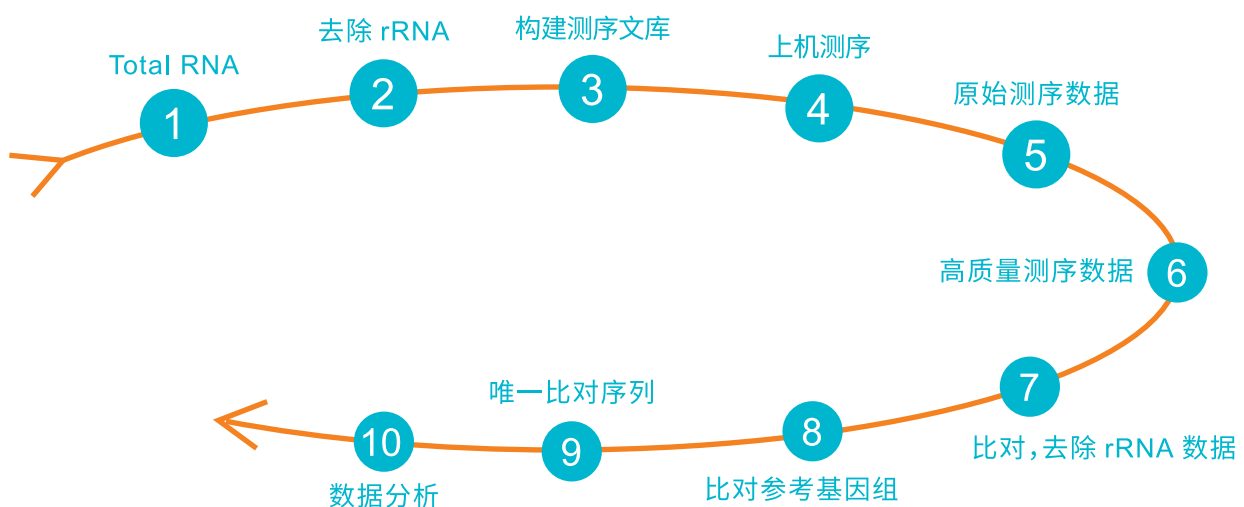
- 组织、细胞 lncRNA 测序
- 外泌体 (exosomes) lncRNA 测序

测序内容	提取方法	建库模式
lncRNA (组织、细胞)	提取总 RNA	去 rRNA 链特异性建库
lncRNA (exosomes)	富集 exosomes 提取 RNA	锐博特有微量 RNA 建库

锐博技术特色

- 专利外泌体抽提技术,配合特有微量 RNA 建库方法,提供外泌体 lncRNA 测序整体服务
- 优化数据分析方法和算法,数据利用率高,可进行 lncRNA 二级结构预测、lncRNA 功能挖掘分析
- 自主研发的 lncRNA 系列产品,全面提供下游功能验证服务

项目流程



* 请到锐博生物官网 www.ribobio.com 的“技术服务询价与下单”中提交委托需求并询价!

数据分析 (部分为模式物种特有分析)

标准信息分析

基因表达量整体水平
样品(组)间基因表达差异分析
差异基因 KEGG 生物通路富集分析
差异基因 Gene Ontology (GO) 功能富集分析
转录本表达量整体水平
已知 mRNA 表达量
已知 mRNA 表达差异分析
已知 ncRNA 表达量
已知 ncRNA 表达差异分析
哺乳动物已知 ncRNA 保守性分析
新 lncRNA 预测
新 lncRNA 表达量计算
新 lncRNA 表达差异分析
新 lncRNA 家族分析
SNP 和 InDel 检测及注释
样品间相关性分析
样品间主成分分析
时间序列分析(与样品(组)间基因表达差异分析二选一)
lncRNA 靶基因预测
lncRNA 与靶基因互作分析
lncRNA 靶基因 KEGG 生物通路富集分析
lncRNA 靶基因 Gene Ontology (GO) 功能富集分析
蛋白互作分析

高级信息分析

共表达分析(样品 ≥ 10)
lncRNA Disease 注释
肿瘤药物注释
新 lncRNA 二级结构预测
基因融合分析
基因结构优化
可变剪切分析(rMATs)
lncRNA-miRNA 互作分析
基因富集分析(GSEA)(每组至少 3 个生物学重复样品)
加权基因共表达网络分析(WGCNA)(样品 ≥ 10)
基因亚细胞定位注释
RNA 结合蛋白预测
组织特异性分析(基于数据库挖掘,仅限于人)
组织特异性分析(多组织测序数据)
肿瘤样品纯度分析
已知 lncRNA 甲基化注释
eRNA 分析

生物信息分析软件

分析内容	分析软件
基因组比对	HISAT2
基因表达水平分析	HTSeq, GFOLD
新 lncRNA 预测	StringTie, gffcompare, hmmscan, CPC, CNCI
SNP 预测及注释	Samtools, ANNOVAR

推荐测序模式

HiSeq, PE150 12G clean data (去 rRNA 法)

参考案例

- [1] Zhu M, Liu J, Xiao J, *et al.* lnc-mg is a long non-coding RNA that promotes myogenesis[J]. *Nature Communications*, 2017, 8:14718.
- [2] Bao X, Wu H, Zhu X, *et al.* The p53-induced lincRNA-p21 derails somatic cell reprogramming by sustaining H3K9me3 and CpG methylation at pluripotency gene promoters[J]. *Cell Research*, 2015, 25(1):80-92.

* 请到锐博生物官网 www.ribobio.com 的“技术服务询价与下单”中提交委托需求并询价!



lncRNA研究工具

锐博生物在线平台
www.ribobio.com
24小时下单

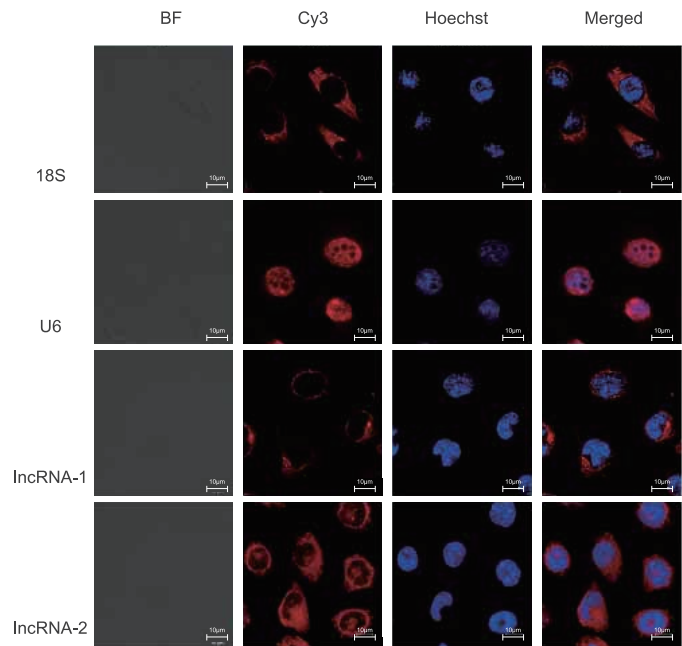
lncRNA FISH 检测试剂盒

由锐博生物自主研发的 lncRNA FISH 检测试剂盒,创新性地改进了 lncRNA 分子的特异性核酸探针数量及标记方式,极大地提高了探针灵敏度,能满足细胞中 lncRNA 准确定位要求,结合激光共聚焦显微镜可清晰地展示 lncRNA 的分布情况,为 lncRNA 功能及作用机制研究提供强有力的工具。

产品优势:

- 定位准确,核内核外清晰明了,功能机制更易确定
- 灵敏度高,信号放大倍数平均达到 160 倍,轻松定位低拷贝数 lncRNA
- 特异性强,集群式的 FISH 探针最大程度地保证 FISH 信号的高特异性

采用激光共聚焦显微镜观察两个 lncRNA FISH 实验结果,18S 与 U6 为内参。红色: Cy3 标签,显示 lncRNA FISH Probe 标记的 lncRNA 及内参;蓝色: Hoechst 染色,显示细胞核。图中清晰显示,18S 几乎均位于细胞质,而 U6 几乎均位于细胞核。lncRNA-1 主要分布在细胞质,而 lncRNA-2 分布于细胞质和细胞核中。



目录编号	产品名称	规格	目录价
Varies	lncRNA FISH Probe Mix(Red)	20T	请见官网
LNC110101	h-U6 FISH Probe Mix(Red)	20T	请见官网
LNC110102	h-18S FISH Probe Mix(Red)	20T	请见官网
C10910	Fluorescent in Situ Hybridization Kit	100T	请见官网

参考案例

- [1] Guo X, Xu Y, Wang Z, *et al.* A linc1405/Eomes complex promotes cardiac mesoderm specification and cardiogenesis[J]. *Cell stem cell*, 2018, 22(6): 893-908. e6.
- [2] Sang L, Ju H, Liu G, *et al.* lncRNA Camk-A regulates Ca²⁺-signaling-mediated tumor microenvironment remodeling[J]. *Molecular cell*, 2018, 72(1): 71-83. e7.
- [3] Gu P, Chen X, Xie R, *et al.* A novel AR translational regulator lncRNA LBCS inhibits castration resistance of prostate cancer[J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 109.

IncRNA 功能研究

锐博生物提供多种高效的 IncRNA 抑制工具,包括 IncRNA siRNA、ASO 以及 Ribo™ IncRNA Smart Silencer。锐博生物研发生产的 Ribo™ IncRNA Smart Silencer 在核内和胞质中均表现出高抑制效率,是您进行 IncRNA 功能缺失性研究的最佳选择。

Ribo™ IncRNA Smart Silencer

细胞中的长链非编码 RNA (IncRNA) 平均丰度比 mRNA 低几十倍,在发挥调控功能时,会与 DNA、RNA 或蛋白分子形成紧密复合物,且在核内和胞质中选择性分布,这些特性决定了 IncRNA 功能研究的复杂性。受到灵敏度、检测精度等因素限制,用于 mRNA 功能缺失研究的 siRNA 工具并不一定适合进行 IncRNA 功能缺失性研究。为了满足 IncRNA 功能研究需求,锐博生物独家推出 Ribo™ IncRNA Smart Silencer 系列 IncRNA 抑制剂。该系列采用优化的设计算法、创新的化学修饰方式,相比普通 siRNA 具有更高灵敏度和抑制效率。在细胞转染效率正常的情况下,Ribo™ IncRNA Smart Silencer 可同时在核内和胞质中全方位抑制 IncRNA,抑制效率高,是进行 IncRNA 功能缺失性研究的最佳选择。

产品优势:

- 采用独家技术,可在核内与胞质全方位抑制 IncRNA
- 更高精确度,精确沉默低丰度 IncRNA
- 更强抑制效率,保证抑制效率高于 50%*

产品编号	产品名称	规格	价格
Varies	Ribo™ IncRNA Smart Silencer	5nmol*2	请见官网
Varies	Ribo™ IncRNA Smart Silencer NC	5nmol	请见官网

注: 细胞转染效率达到 70% 以上的情况下,若 IncRNA 抑制效率未达 50%,锐博生物将负责设计一个新的 Smart Silencer。

IncRNA 体内实验

锐博生物拥有国际领先的寡核苷酸合成与修饰技术,世界一流的寡核苷酸生产平台,可以根据客户的需求,设计合成各种不同规格、不同长度、不同修饰方式、不同纯化方式的寡核苷酸,用于 IncRNA 的体内研究。



产品优势:

- 稳定化学修饰,有效保护核酸不受核酸酶降解
- 独特化学修饰,有效降低免疫反应
- 高效化学修饰,提高生物利用度
- 精确序列设计,有效降低“脱靶效应”
- 已经脱盐、去内毒素处理,可直接注射于实验动物
- 合成规格可达百克级

产品编号	产品名称	价格
Varies	Antisense oligonucleotide	请见官网
Varies	genOFF™ in vivo siRNAs	请见官网

* 锐博生物提供定制动物实验及活体成像服务,详情请咨询当地销售工程师。

参考案例

[1] Wang P, Xu J, Wang Y, *et al.* An interferon-independent IncRNA promotes viral replication by modulating cellular metabolism[J]. *Science*, 2017, 358(6366): 1051-1055.

[2] Meng Q, Wang K, Brunetti T, *et al.* The DGCR5 long noncoding RNA may regulate expression of several schizophrenia-related genes[J]. *Science translational medicine*, 2018, 10(472): eaat6912.

[3] Liu J, Zhang X, Chen K, *et al.* CCR7 Chemokine Receptor-Inducible Inc-Dpf3 Restrains Dendritic Cell Migration by Inhibiting HIF-1 α -Mediated Glycolysis[J]. *Immunity*, 2019, 50(3): 600-615. e15.

lncRNA 检测

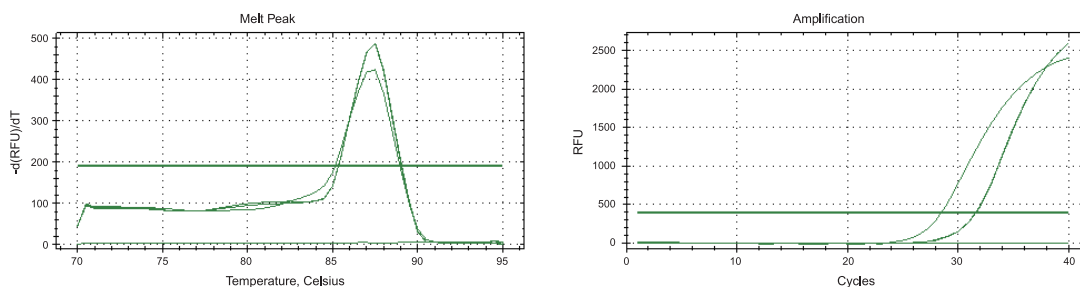
lncRNA qPCR 引物

针对 lncRNA 序列特异性设计, 适合基于 SYBR Green 的 lncRNA qRT-PCR 检测使用。

产品优势:

- 针对 lncRNA 序列特点, 优化引物设计位点
- 灵敏度与特异性俱佳

通过 lncRNA qPCR 检测, 可在常规的 qPCR 检测平台基础上, 快速准确地得到不同 lncRNA 的表达水平、不同样本之间 lncRNA 的表达差异, 验证 lncRNA 测序与芯片结果, 进而挑选出可能与某一疾病或者某一功能高度相关的 lncRNA, 为下一步研究打好坚实的基础。



比较肺癌组织和癌旁组织中的 lncRNA (AK124893) 的表达差异

lncRNA 作用机制研究

lncRNA ChIRP Probe

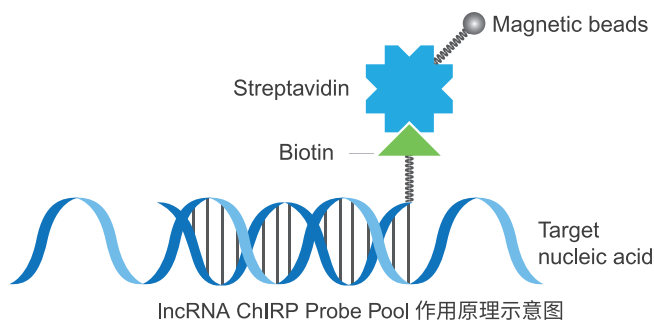
lncRNA ChIRP (Chromatin Isolation by RNA Purification) Probe 是一类生物素修饰的核酸探针产品, 是 lncRNA 分子作用机制研究的重要工具。锐博生物为客户感兴趣的 lncRNA 分子提供序列设计及修饰探针合成服务。由特异反义核酸序列组成的探针库, 与 lncRNA 高效杂交, 利用链霉亲和素磁珠可获得目标 lncRNA 所结合的染色质复合体, 最后纯化 RNA、DNA 和蛋白质, 用于后续研究目标 lncRNA 的分子作用机制。

产品优势:

- 设计优, 多位点探针优化设计, 全面提升杂交特异性
- 覆盖全, lncRNA 全链完整覆盖, 有效保证杂交效率

使用领域:

- lncRNA 结合蛋白鉴定
- lncRNA 染色体结合位点鉴定
- lncRNA 转录调控机制探索



lncRNA ChIRP Probe Pool 作用原理示意图

产品编号	产品名称	价格
Varies	lncRNA ChIRP Probe (5' Biotin-TEG)	请见官网
Varies	lncRNA ChIRP Probe (3' Biotin-TEG)	请见官网

注: 以上价格为单条 ChIRP 探针价格, 具体订购数量需依据待测 lncRNA 的序列, 探针设计情况依客户需求而定。

参考案例

- [1] Jin X, Xu X E, Jiang Y Z, *et al.* The endogenous retrovirus-derived long noncoding RNA TROJAN promotes triple-negative breast cancer progression via ZMYND8 degradation[J]. *Science advances*, 2019, 5(3): eaat9820.
- [2] Lan T, Yuan K, Yan X, *et al.* lncRNA SNHG10 facilitates hepatocarcinogenesis and metastasis by modulating its homolog SCARNA13 via a positive feedback loop[J]. *Cancer research*, 2019, 79(13): 3220-3234.