

## 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

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 的表达情况和发现大量新的 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:

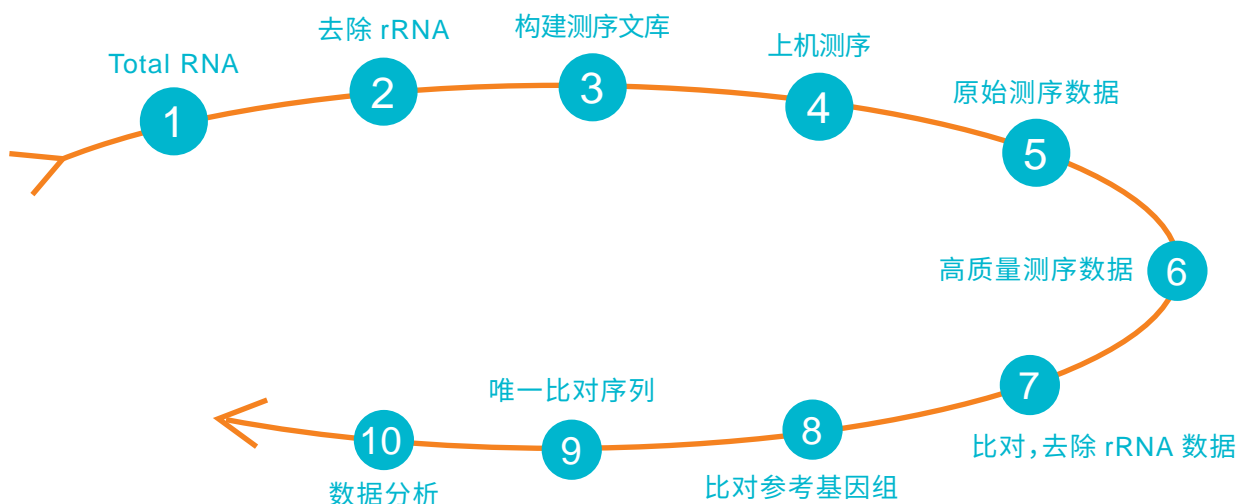
- 组织、细胞 lncRNA 测序
- 外泌体 (exosomes) lncRNA 测序
- 单细胞 lncRNA 测序

测序内容	提取方法	建库模式
lncRNA (组织、细胞)	提取总 RNA	去 rRNA 法
lncRNA (exosomes)	富集 exosomes 提取 RNA	锐博特有微量 RNA 建库法
lncRNA (单细胞)	分离单细胞提取 RNA	锐博超微量 RNA 建库法

## 锐博技术特色

- 先进的单细胞分选及超微量 RNA 建库技术,可提供单细胞 lncRNA 测序
- 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



## 数据分析 (红色标记为模式物种特有分析)

### 标准信息分析

rRNA 去除率计算  
 参考基因组比对统计  
 已知基因表达量计算  
 已知转录本表达量计算  
 mRNA/lncRNA 差异表达及聚类分析  
 差异基因 KEGG 富集分析  
 差异基因 GO 功能聚类  
 新 lncRNA 预测及表达量计算  
 新 lncRNA 二级结构预测  
 新 lncRNA 家族性分析  
 SNP/InDel 分析  
**lncRNA 功能预测**  
**蛋白互作网络分析**  
 重复样品间相关性分析  
 PCA 分析

### 高级信息分析

**融合基因检测**  
 可变剪切分析  
 哺乳动物 RNA 保守性分析  
 mRNA/lncRNA 共表达网络分析  
**lncRNA-miRNA 互作**  
 其他定制化分析

## 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
差异表达分析	DEGseq, DEseq, EdgeR
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

Zhou L, *et al.* Linc-YY1 promotes myogenic differentiation and muscle regeneration through an interaction with the transcription factor YY1. **Nat Commun.** 2015

Wang L, *et al.* LncRNA Dum interacts with Dnmts to regulate Dppa2 expression during myogenic differentiation and muscle regeneration. **Cell Res.** 2015





# lncRNA研究工具

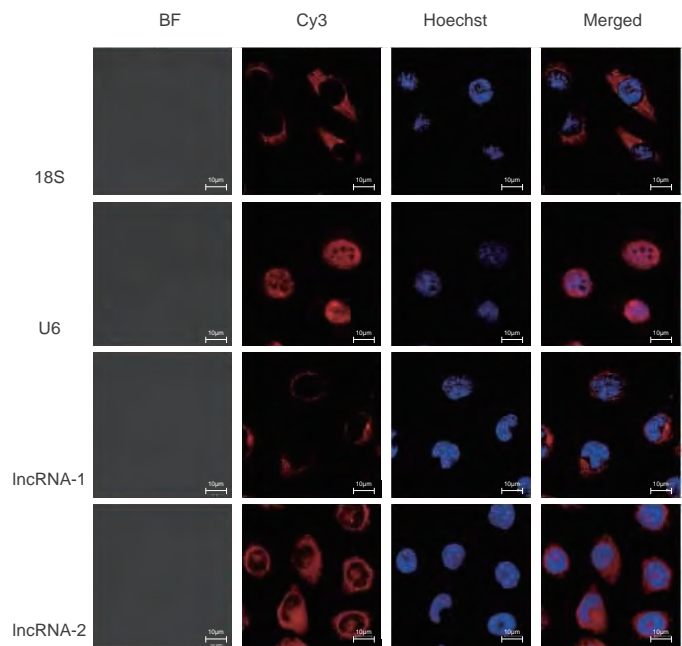
## lncRNA FISH 检测试剂盒

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	¥3,000
LNC110101	h-U6 FISH Probe Mix(Red)	20T	¥1,500
LNC110102	h-18S FISH Probe Mix(Red)	20T	¥1,500
C10910	Fluorescent in Situ Hybridization Kit	100T	¥ 800

## 参考案例

Yi H, Peng R, Zhang L, *et al.* lncRNA-Gm4419 knockdown ameliorates NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in diabetic nephropathy[J]. *Cell Death & Disease*, 2017.

Chen J, Liu Y, Lu S, *et al.* The role and possible mechanism of lncRNA U90926 in modulating 3T3-L1 preadipocyte differentiation[J]. *International Journal of Obesity*, 2017.

Jin C, Jia L, Huang Y, *et al.* Inhibition of lncRNA MIR31HG Promotes Osteogenic Differentiation of Human Adipose-Derived Stem Cells[J]. *STEM CELLS*, 2016.



## lncRNA 检测

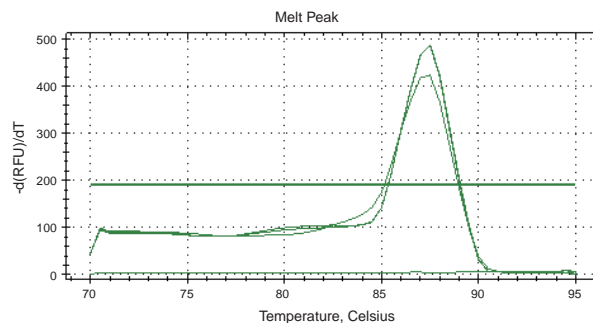
### lncRNA qPCR 引物

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:

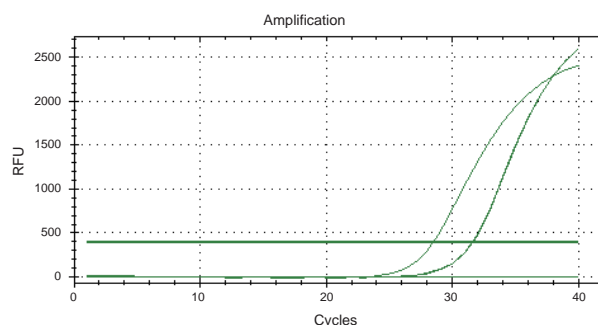
- 针对 lncRNA 序列特点, 优化引物设计位点
- 灵敏度与特异性俱佳

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。



## lncRNA 功能研究

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



比较肺癌组织和癌旁组织中的 lncRNA (AK124893) 的表达差异

### Ribo™ lncRNA Smart Silencer

细胞中的长链非编码 RNA (lncRNA) 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 lncRNA 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 lncRNA 功能缺失性研究。为了满足 lncRNA 功能研究需求, 锐博生物独家推出 Ribo™ lncRNA Smart Silencer 系列 lncRNA 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™ lncRNA Smart Silencer 可同时在核内和胞质中全方位抑制 lncRNA, 抑制效率高, 是进行 lncRNA 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 lncRNA
- 更高精确度, 精确沉默低丰度 lncRNA
- 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™ lncRNA Smart Silencer	5nmol*2	¥3400
Varies	Ribo™ lncRNA Smart Silencer NC	5nmol	¥500

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

### 参考案例

Li SP, *et al.* lncRNA HULC enhances epithelial-mesenchymal transition to promote tumorigenesis and metastasis of hepatocellular carcinoma via the miR-200a-3p/ZEB1 signaling pathway. *Oncotarget*. 2016

Li XU, *et al.* unraveling the Expression Profiles of Long Noncoding RNAs in Rat Cardiac Hypertrophy and Functions of lncRNA BC088254 in Cardiac Hypertrophy Induced by Transverse Aortic Constriction. *Cardiology*. 2016

## lncRNA 作用机制研究

### lncRNA ChIRP Probe

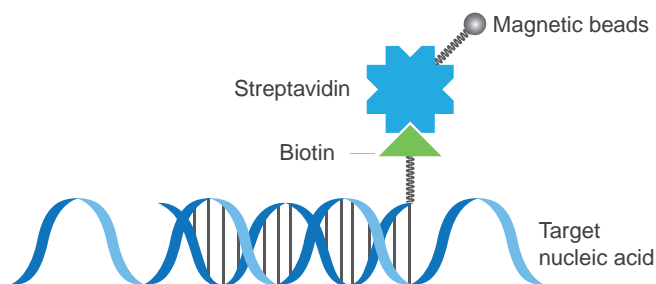
lncRNA ChIRP (Chromatin Isolation by RNA Purification) Probe 是一类生物素修饰的核酸探针产品,是 lncRNA 分子作用机制研究的重要工具。锐博生物为客户感兴趣的 lncRNA 分子提供序列设计及修饰探针合成服务。由特异反义核酸序列组成的探针库,与 lncRNA 高效杂交,利用链霉亲和素磁珠可获得目标 lncRNA 所结合的染色质复合体,最后纯化 RNA、DNA 和蛋白质,用于后续研究目标 lncRNA 的分子作用机制。

#### 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



产品编号	产品名称	价格
Varies	lncRNA ChIRP Probe (5'Biotin-TEG)	¥380 each probe
Varies	lncRNA ChIRP Probe (3'Biotin-TEG)	¥580 each probe

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

Wang L, Zhao Y, Bao X, *et al.* lncRNA Dum interacts with Dnmts to regulate Dppa2 expression during myogenic differentiation and muscle regeneration[J]. *Cell research*, 2015.

Li Z, Huang C, Bao C, *et al.* Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus[J]. *Nature structural & molecular biology*, 2015.

## lncRNA 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 lncRNA 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	Inquire
Varies	genOFF™ in vivo siRNAs	Inquire

\* 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。