



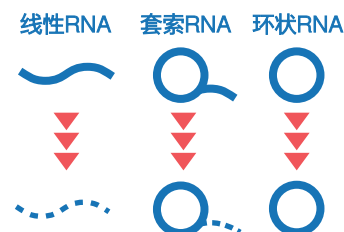
环状RNA的富集和纯化 RNase R



与普通mRNA相比，环状RNA更不容易被降解，并且具有在细胞内长期稳定表达的特性，因此它作为疾病治疗和生物标志物的应用受到关注。

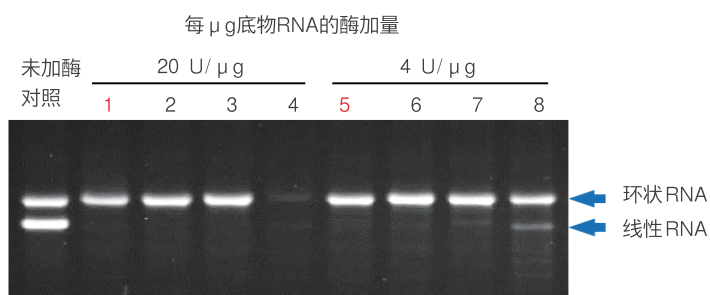
RNase R是一种能有效降解线性RNA的3'→5'核酸外切酶，但不降解环状RNA结构，因此可用于以下应用。

- ✓ 环状RNA富集，作为NGS和qPCR分析的预处理
- ✓ 去除环状RNA合成样品中的线性RNA



产品名称	Code No.	浓度	包装量
RNase R	2153A	20 U/μl	1,000 U

RNase R分解线性RNA的能力



试剂：本产品和其他公司的RNase R

酶添加量：20 U

底物：1 μg或5 μg的RNA，线性RNA与环状RNA比例为1:1

方法：37°C下反应15分钟，进行变性琼脂糖凝胶电泳。（反应液组成参照各公司网页）

泳道	RNase R	酶量/底物量
未加酶对照	—	0 U/1 μg
1	Takara 2153A	20 U/1 μg
2	A公司	
3	B公司	
4	C公司	
5	Takara 2153A	20 U/5 μg (4 U/1 μg)
6	A公司	
7	B公司	
8	C公司	

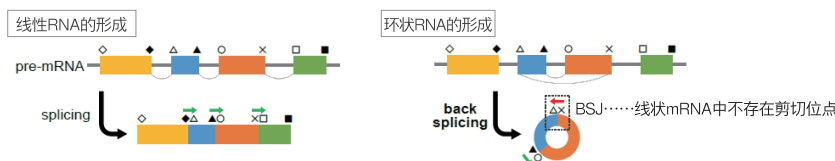
➔ 结果显示，本产品不分解环状RNA，只选择性地分解线性RNA。

➔ 本产品即使在1/5的酶量下也能保持其分解能力。

(Takara Bio Inc.比较结果)

RNase R在环状RNA的NGS分析中的应用实例

以人为代表的真核生物中，与线性RNA的剪接连接不同，环状RNA由mRNA前体通过反向剪接（BSJ）形成。因此，根据测序结果，统计含有BSJ的片段，可以识别由相同基因区域编码的线性RNA和环状RNA，并且可以定量环状RNA。



有报告称环状RNA的存在量较少，仅为线性PolyA-RNA的1%左右。因此，对环状RNA详细分析时，需要采用能从样本中选择性解析环状RNA的方法。

在本实验中，通过RNase R特异性分解样本中的线性RNA来富集环状RNA，进而以环状RNA为目标进行NGS分析，评估该方法的有效性。

环状RNA的富集和纯化RNase R

■ RNase R在环状RNA的NGS分析中的应用实例

方法：向100 μg来源于HEK293T细胞的Total RNA中加入10 ng已知序列的人工环状RNA作为spike-in。一部分不进行RNase R处理，一部分进行RNase R处理（40 U，37℃，30分钟），然后分别纯化RNA，并分别使用1 ng进行RNA-Seq。计算作为spike-in添加的人工环状RNA区域的TPM值。（TPM：Transcripts per million，每100万个片段中来自人工环状RNA的片段数量）

表1 RNaseR处理和未处理的人工环状RNA区域表达水平（TPM值）的比较

RNase R处理	TPM值
未处理	5,964
处理	28,890

结果显示，经RNase R处理的样本中，人工环状RNA区域的TPM值比未经RNaseR处理的样本高约4.8倍。

这说明，使用RNase R处理富集样品后进行分析，可以更好的选择性地检测低丰度的环状RNA。

接下来，我们比较了经过和未经RNase R处理的情况下，人类基因组中已报道的表达环状RNA的六个基因中，含BSJ片段的数量。

表2 未经RNase R处理和经过RNase R处理的样本，检测到含BSJ片段的数量比较

人类环状RNA	BSJ/40M片段		BSJ/160M片段	
	RNase R -	RNase R +	RNase R -	RNase R +
HIPK3	15	131	45	480
LINC00632	248	679	965	2,695
MTO1	0	10	0	48
PLOD2	0	28	19	124
SMARCA5	34	100	125	407
XPO1	24	63	105	294

结果显示，经过RNase R处理的样本中检测到的含BSJ片段，比未经RNase R处理的样本多。

此外，未经RNase R处理而检测认为不含BSJ片段的基因，可以通过RNase R处理检测到。

这说明，使用RNase R富集环状RNA有助于提高定量和检测灵敏度。

▶▶ Takara mRNA合成相关重点产品

流程	Code No.	产品名称	包装量	概述
IVT模板制备	6146	Template Vector (BspQ I) for T7 mRNA Synthesis	10 μl	模板质粒（含BspQ I位点）
	1227A	BspQ I	500 U	质粒模板线性化用限制酶
	9132	Takara Stable Competent Cells	100 μl×10	高稳定性感受态细胞
mRNA合成	2541A/2542A/T2411S001	T7 RNA Polymerase ver.2.0, RUO/HQ/GMP	多种包装	高mRNA合成量
	2560A/2561A/T2422S001	PrimeCap™ T7 RNA Polymerase (low dsRNA), RUO/HQ/GMP	多种包装	高mRNA合成量，低dsRNA副产物
	6144	Takara IVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit	20 Rxns	含2541A、NTP、DNase I、LiCl沉淀试剂等
	6134	Takara IVTpro™ T7 mRNA Synthesis Kit (low dsRNA)	20 Rxns	含2560A、NTP、DNase I、LiCl沉淀试剂等
	2450A	Pyrophosphatase (inorganic)	10 U	防止副产物PPi积累，提高RNA产量
	2315A	Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0	5,000 U	抗氧化性更强
转录后修饰	2460A	Vaccinia Capping Enzyme	500 U	VCE加帽酶
	2480A	Faustovirus Capping Enzyme (S17)	500 U	FCE加帽酶，适应更广泛的反应温度
	2470A	mRNA Cap 2'-O-Methyltransferase	2,500 U	2'-O甲基化酶
	2050A	T4 RNA Ligase	1,000 U	T4 RNA连接酶，可用于环状RNA合成
	2153A	RNase R	1,000 U	降解线性RNA，可用于环状RNA富集
mRNA无细胞表达	3288	Human Cell-Free Protein Expression Master Mix for mRNA	10 Rxns	IVT合成加帽的mRNA后，无细胞表达蛋白质

- 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。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 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。
- 本宣传页上记载的产品信息是2025年9月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Takara官方微信



Ver.1 2025年9月制作