

REPLI-g® WTA Single Cell Kit 和 REPLI-g Cell WGA & WTA Kit

从单细胞起始的总 RNA 全转录本扩增或从有限的样本进行全基因组/ 全转录本扩增

REPLI-g WTA Single Cell Kit 能够在单细胞转录本水平上对转录调控的影响进行可靠的研究，而 REPLI-g Cell WGA & WTA Kit 则能够同时从非常少量的样本中同时扩增全基因组和全转录组，使得基因组与转录组的研究具有直接相关性。专用的缓冲液和试剂，以及精心设计的酶促步骤都确保了高效的核酸固定和处理效果。精确的 RNA 全转录组扩增 (WTA) 和 DNA 全基因组扩增 (WGA)，可确保实现最大的覆盖度和可以忽略不计序列偏差，能够满足后续的二代测序 (NGS)、阵列或 qPCR 的分析需要。

REPLI-g WTA Single Cell Kit 将为您提供：

- 从单一细胞实现完整的转录本覆盖度
- MDA 技术可实现均一的 WTA，序列偏差可以忽略不计
- 针对新技术应用 (包括 RNA-Seq) 优化
- 总 RNA 或富集 mRNA (poly A+) RNA 的扩增
- 用于癌症和干细胞研究的新工具

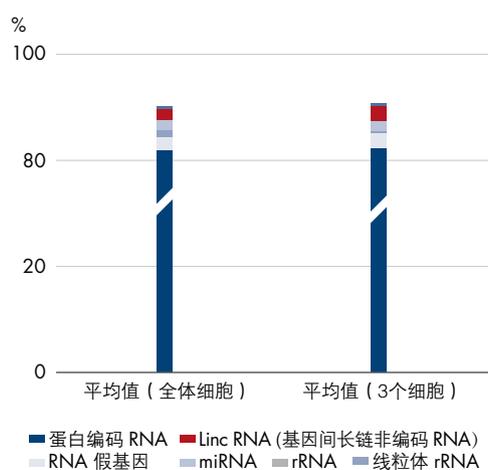
在单细胞水平实现对转录作用的 NGS (二代测序) 分析

转录调节受到各种因素驱动，如应激、细胞环境或由疾病或体细胞基因组变异。此外，转录后的加工作用也会导致导致转录模式不同并最终造成生理机能的不同。由于组织的复合结构，在单细胞中对转录调控进行研究，而不是分析大量的细胞并且立足分析结果解释他们的行为，正不断引起科学家们的兴趣 (表 1)。REPLI-g WTA Single Cell Kit 能够针对所有的 RNA 种类进行序列偏差可以忽略不计的扩增，从而在包括 NGS 在内的大量下游分析中确保生成精确的检测结果 (图 1)。

图 1. NGS 分析：仅以 3 细胞样本即可获得大量的可定位读值。 REPLI-G WTA 单细胞反应在 3-1000 个细胞上重复进行，并使用 mRNA (poly A+) 富集实验方法以减少 rRNA 的扩增。WTA 扩增的 cDNA 被片段化 (Covaris® S220)，而一个 NGS 测序文库则使用 GeneRead™ Library Prep 1 Kit 制备。测序在 MiSeq® Instrument (Illumina) 上完成，RNA 的生物型位置测定则采用 Bowtie2。结果表明，大部分的片段 (>80%) 可对蛋白质编码 RNA 和 Linc RNA 进行位置测定，而其他位置测得非靶向 RNA 生物型 (少数 RNA 生物型数据未显示) 片段的数量则可以忽略。获得的所有 WTA 样品 (平均值 [全体细胞]) 和 3 个细胞 WTA 样品 (平均值 [3 细胞]) 的测序值结果相当。

表 1. 样本类型和研究领域范围

样本材料 (细胞 / 总 RNA)	研究领域
人类 / 动物	生物标记物的表达 干细胞研究 游离胚胎细胞分析 嵌合体研究 遗传易感性研究
癌症	体细胞遗传变异分析 肿瘤恶化 肿瘤干细胞 / 演化 游离肿瘤细胞分析



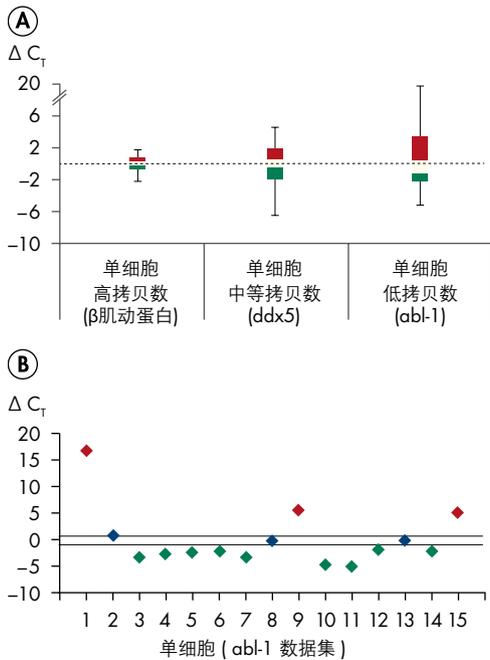


图 2. 即使是对于单细胞中的低丰度转录本，也可高度灵敏的检测。使用 REPLI-g WTA Single Cell Kit 对 15 个不同的单细胞或 10 pg 的总 RNA 的复制子进行全转录本扩增。对来源于各种不同转录物的 1 ng WTA 扩增的 DNA 进行 Realtime PCR 分析，以定量检测转录水平（高、中、低）。A 从 ΔC_t (C_t [WTA-DNA] - 平均 C_t [WTA-DNA]) 计算得到的盒状图用以区分方法衍生技术噪声方面的生物学差异。绿色框图表示基因表达增加，红色盒表示基因表达相比于平均值降低。技术噪点由白框表示，这显然小于检测到的生物学上差异。B 15 个细胞上一种低拷贝转录物 (ABL-1) 的分析证明，在个体细胞之间转录水平存在差异，且大多数 C_t 值落在技术噪点之外（由黑线表示）。这些结果表明，REPLI-g WTA Single Cell Kit 非常适合分析低丰度转录物，甚至是来源于单细胞的低丰度转录物。

图 3. 对低丰度转录本进行更加灵敏的检测。使用 20 pg 总 RNA 进行全转录本扩增。A 其他厂商的试剂在扩增同样数量的相同转录物时往往不太成功，与之不同的是 REPLI-g WTA Single Cell Kit 扩增的 RNA 可以检测到 100% 的高、中、低丰度的转录物。B 22 个中等丰度转录物代表着 [A] 中中等丰度转录物行，对其进行 real-time PCR 发现，只有 REPLI-g WTA Single Cell Kit 可靠扩增了所有的转录物。不能被检测到的转录物的 C_t 值 > 40（蓝色条）。

即使是对于单细胞中的低丰度转录本——也能获得高度灵敏和可靠的检测结果

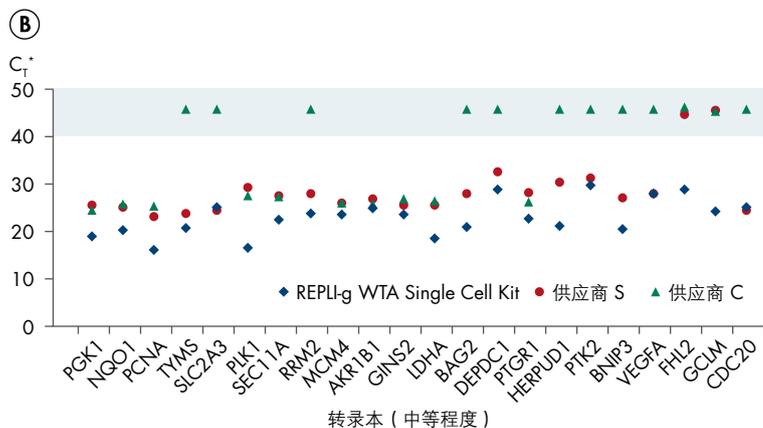
当细胞之间转录本丰度差异变化很大时，单细胞分析将变得极具挑战性。为了获得精确的检测结果，须对全转录组中的所有转录本实行可靠的扩增——无论其丰度水平如何。REPLI-g WTA Single Cell Kit 具有最强的检测灵敏度，非常适用于针对低丰度转录本的分析；同时“技术噪声”达到最小，即使是单一细胞样本也足以胜任（图 2）。不同于其他供应商所提供的试剂盒——它们无法对中等和低丰度转录本实行成功的扩增——REPLI-g WTA Single Cell Kit 扩增的 RNA 可以能够灵敏地检测全部高、中、低丰度的转录物（图 3）。

从有限样本同时进行基因组和转录组分析

转录调控受基因组对环境的应激驱动。由于组织内存在着复合结构，所以分析基因型改变或环境改变对转录组造成的直接影响时，通常结果并不稳定，经常出错。创新型的 REPLI-g Cell WGA & WTA Kit 能够以至少 25 个细胞的起始样本同时对全基因组和全转录组进行扩增，从而将这一非常小量的样本中的基因组与转录组信息关联起来（图 4）。

(A)
检测过的转录本

基因组标志物	QIAGEN	成功	供应商S	成功	供应商C	成功
高丰度	100%	YES	100%	YES	90%	NO
中等丰度	100%	YES	91%	NO	45%	NO
低丰度	100%	YES	60%	NO	30%	NO



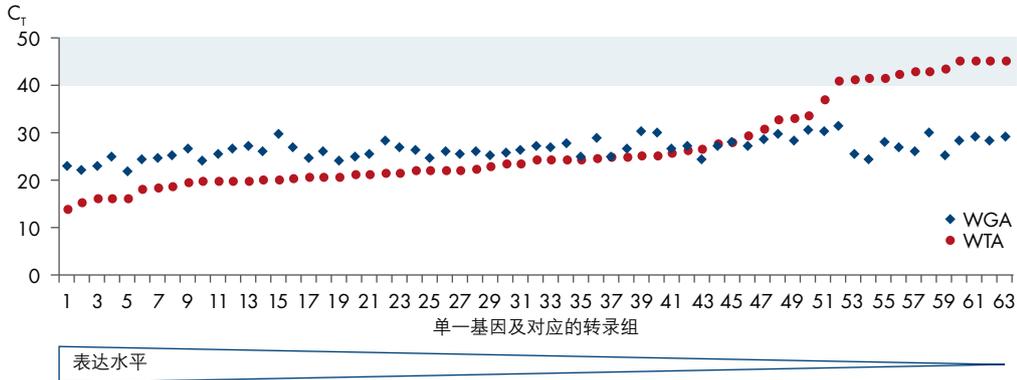


图 4. 十分适合于利用有限的样本同时进行基因组和转录组分析。使用 REPLI-g Cell WGA & WTA Kit 从相同的 25 个细胞样本扩增 DNA 和总 RNA。我们采用相同的 RT² Profiler PCR Array 分析 62 个个体基因和它们相应的转录物，并按照它们的表达水平进行排序。来源于基因组 DNA 的所有基因检测到的 Ct 水平在 20-30 之间，对应的转录物则由于不同的丰度（包括检测不到的转录物水平）而显示出差异。

REPLI-g Cell WGA & WTA Kit 将为您提供：

- 同时扩增基因组 DNA 和 RNA（总 RNA 或富集 mRNA）
- MDA 技术实现了可忽略不计的扩增偏差
- 直接关联基因组和转录组分析的最新解决方案
- 适用于 NGS 和癌症研究等领域的创新工具

高水平的实验可重复性

在高效的细胞裂解步骤和数个智能的酶促反应之后，REPLI-g Cell WGA & WTA Kit 将通过先进的 MDA 技术，对基因组 DNA 和 cDNA 实现全面无偏的扩增（图 5）。扩增得到的核酸产物体现了检测结果中高度的灵敏度和可靠性，确证了实验与实验之间高度的可重复性和最低程度的“技术噪声”，表明本品高度适合于 NGS 等后续应用（数据未显示；请浏览 www.qiagen.com 网站以获得更为详细的信息）

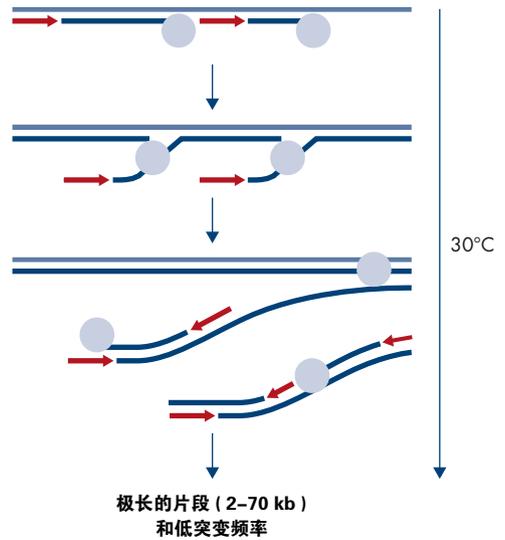


图 5. 多重置换扩增 (MDA) 技术能够通过恒温扩增反应生成较长的读长。引物（箭头）退火到模板 DNA，并在 30°C 下通过 REPLI-g SensiPhi DNA 聚合酶沿着基因组 DNA 或 cDNA 模板链延展，置换互补链成为复制模板。与基于 PCR 的扩增不同，MDA 不需要温度变化，并且扩增结束于具有低突变率的长片段。

这两种 REPLI-g 试剂盒均能够提供均一的扩增效果和最低的序列偏性。输入样本的材料包括单个或少量的细胞，以及不同种类的 RNA 纯化产物；完整流程仅需 4 个小时（表 2）。这两套试剂盒采用多重置换扩增（MDA）技术，该技术利用一种可复制高达 70 kb 的片段而无需解离 DNA 模板的独特的、连续 DNA 聚合酶进行 gDNA/cDNA 恒温扩增（图 5）。

表 2. 创新的试剂盒特性

试剂盒特点	优势	REPLI-g WTA Single Cell Kit	REPLI-g Cell WGA & WTA Kit
完整操作流程	速度	4 小时	4 小时
手动操作时间	精简流程	15 分钟	20 分钟
起始材料	灵活性	1-1000 份细胞或组织样本纯化的 RNA (>10 pg) *	25-1000 个细胞或组织样本不支持
下游应用	通用性	mRNA-seq、全转录本测序、qPCR、arrays	NGS (mRNA-seq, DNA-seq), qPCR, arrays
保真度比 Taq 高 1000 倍	最小的突变率，排除假阳性 / 假阴性结果	是	是
UV (紫外线) 消毒程序	阻断 DNA 或 RNA 污染物的扩增	是	是
完整的试剂盒形式	扩增的 DNA/cDNA，易于使用	从裂解产物直至获得扩增好的 cDNA	从裂解产物直至获得扩增好的 DNA/cDNA

* 总 RNA、polyA 富集的 mRNA、已去除 rRNA 的 RNA 样本。

订购信息

产品	规格	货号
REPLI-g WTA Single Cell Kit (24)*	For 24 samples or single cells: REPLI-g SensiPhi DNA Polymerase, Buffers, and Reagents for 24 x 60 µl whole transcriptome amplification reactions (typical yield: 20 µg)	150063
REPLI-g Cell WGA & WTA Kit (12)*	For 12 samples: REPLI-g SensiPhi DNA Polymerase, Buffers, and Reagents for 12 x 60 µl whole genome amplification reactions and 12 x 60 µl whole transcriptome amplification reactions (typical yield: 20 µg from each reaction)	150052

* Larger kit sizes available; see www.qiagen.com.

关于最新的许可信息和产品特定的免责声明，请阅读相关的 QIAGEN 试剂盒手册或操作指南。QIAGEN 试剂盒手册和操作指南可在 www.qiagen.com 上下载，或向 QIAGEN 技术服务或当地的经销商索取。

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, GeneRead™, REPLI-g® (QIAGEN Group); Covaris® (Covaris, Inc.); MiSeq® (Illumina, Inc.). 8099097 04/2016 © 2016 QIAGEN, all rights reserved.

凯杰企业管理（上海）有限公司

电话：021-3865 3865 ■ 技术支持热线：800-988-0325 400-880-0325

TechService-CN@qiagen.com ■ www.qiagen.com

