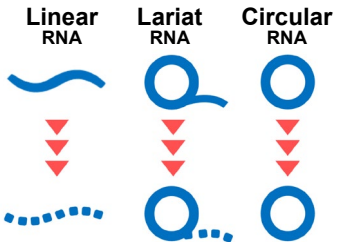
環状RNAおよびラリアットRNAの濃縮・精製に

RNase R

環状RNAは通常のmRNAよりも分解されにくく、細胞内で長期にわたり安定して発現する特性があるため、疾患治療やバイオマーカーとしての応用が注目されています。

RNase Rは、直鎖状RNAのみを効率的に分解可能な3'-5'エキソリボヌクレアーゼであり、環状RNA構造は分解しないため、以下のような用途にご利用いただけます。

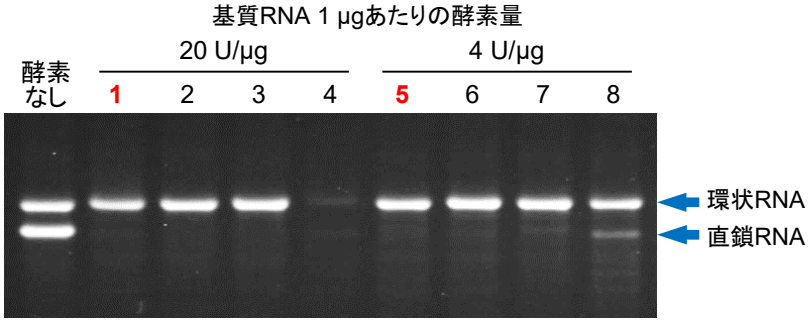


- ✔ NGSやqPCR解析の前処理としての環状RNA濃縮
- ✔ 環状RNA合成サンプル中の直鎖状RNA除去

製 品 名	容 量	製品コード	価 格(税別)
RNase R NEW	1,000 U	2153A	¥43,000

◆ RNase Rの直鎖状RNA分解能

本製品および他社RNase Rを用いて、直鎖状RNAと環状RNA(存在比1:1)を含むRNA基質1 µgまたは5 µgの分解能を確認した。各反応は、20 µl反応系において本製品および他社RNaseRを20 U添加し、37℃で15分間反応後に変性アガロースゲル電気泳動を行った。(反応液組成は弊社ウェブページ参照)



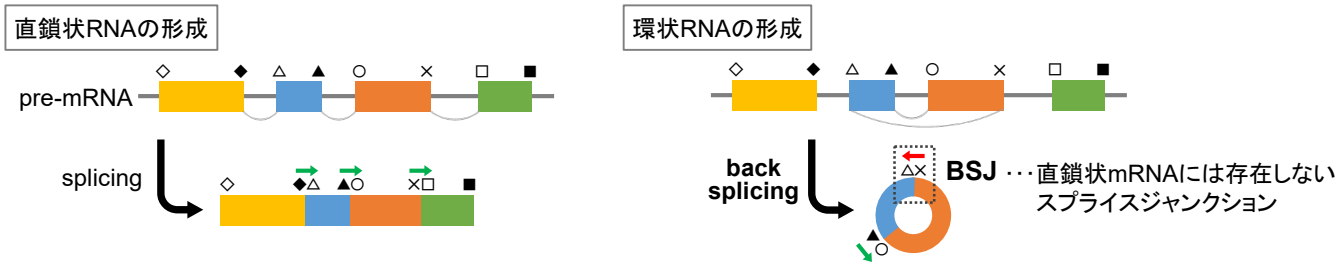
lane	RNase R	酵素量／基質RNA量
酵素なし	-	0 U/1 µg
1	タカラバイオ	20 U/1 µg
2	A社	
3	B社	
4	C社	
5	タカラバイオ	20 U/5 µg (4 U/1 µg)
6	A社	
7	B社	
8	C社	

その結果、本製品は環状RNAを分解することなく、直鎖状RNAのみを選択的に分解した。また、本製品は5分の1の酵素量においてもその分解能が保持されることが示された。

(弊社取得データ)

◆ 環状RNAのNGS解析におけるRNase R活用例 ▸▸▸ 実験内容・結果は裏面をご覧ください。

ヒトをはじめとした真核生物において、環状RNAはmRNA前駆体からバックスプライシングを通じて形成され、バックスプライスジャンクション(BSJ)と呼ばれる直鎖状RNAが有さないスプライスジャンクションが存在する。そのため、シーケンス結果に基づいてBSJを含むフラグメントを集計することで、同じ遺伝子領域からコードされる直鎖状RNAと環状RNAを識別したり、環状RNAを定量することができる。



しかし、環状RNAは存在量が少なく直鎖状PolyA-RNAの1%程度であるという報告もあり、環状RNAの詳細解析においては、サンプル中の環状RNAを選択的に解析する手法が必要とされる。

本実験では、環状RNAを標的としたNGS解析を行うにあたり、RNase Rによりサンプル中の直鎖状RNAを特異的に分解し、環状RNAの濃縮を行う手法の有効性を評価した。

◆ 環状RNAのNGS解析におけるRNase R活用例

実験内容・結果

HEK293T細胞由来のTotal RNA 100 μgに対し、spike-inとして既知配列の人工環状RNAを10 ng添加した。その後、RNase R処理なしおよびRNase R処理あり（40 U、37℃、30分間）についてそれぞれRNAを精製し、各1 ngを用いてRNA-Seqを行った。

Spike-inとして添加した人工環状RNA領域のTPM値を算出した（表1）。
その結果、RNase R処理ありのサンプルにおける人工環状RNA領域のTPM値は、処理なしの場合と比較して約4.8倍高くなった。
これにより、RNase Rを用いて環状RNAの濃縮を行ったサンプルを解析に使用することで、存在量の少ない環状RNAをより選択的に検出できることが示された。

表1. RNase R処理の有無による人工環状RNA領域発現量（TPM*値）の比較

RNase R処理	TPM*値
なし	5,964
あり	28,890

*：Transcripts per million
ここでは、100万フラグメントあたりの人工環状RNA由来のフラグメントの数を示す。

次に、ヒトゲノムにおいて環状RNAの発現が報告されている6つの遺伝子について、BSJを含むフラグメント数をRNase R処理の有無で比較した（表2）。
その結果、RNase R処理ありの場合、処理なしのサンプルよりBSJを含むフラグメントが多く検出された。また、RNase R処理なしではBSJを含むフラグメントが検出されなかった遺伝子に関しても、RNase R処理ありでは検出が可能となった。
これにより、RNase Rを用いた環状RNAの濃縮は、定量性の向上および検出感度の引き上げに有用であることが示された。

表2. RNase R処理の有無によるBSJを含むフラグメント数の比較

ヒト由来環状RNA	BSJ/40Mフラグメント		BSJ/160Mフラグメント	
	RNase R処理なし	RNase R処理あり	RNase R処理なし	RNase R処理あり
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

◆ 関連製品

製　品　名	概　要	容　量	製品コード	価 格（税別）
SMART-Seq® Total RNA Single Cell (ZapR® Mammalian)	微量からのtotal RNA-Seq用ライブラリー調製キット	24回	634360	¥378,000
SMART-Seq® mRNA Long Read	ロングリードシーケンサー用cDNA合成キット	24回	634377	¥240,000

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。　・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。
・本チラシに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。
・本チラシ記載の価格は2025年7月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2025年7月作成N

タカラバイオ株式会社

営業部（東京）　TEL 03-3271-8553　FAX 03-3271-7282
営業部（本社）　TEL 077-565-6969　FAX 077-565-6995
テクニカルサポートライン　TEL 077-565-6999　FAX 077-565-6995
Website　https://www.takara-bio.co.jp
公式X　@Takara_Bio_JP / https://x.com/Takara_Bio_JP

取扱店