

# Lnc-IRS1 RACE实验进展

武汉金开瑞生物工程有限公司

## 逆转录引物设计以及扩增片段区域

Chicken RT F1: TGGCATAAATTGGTTCGACA

Chicken RT R1: GCAGCACTTGGACTGAAACA

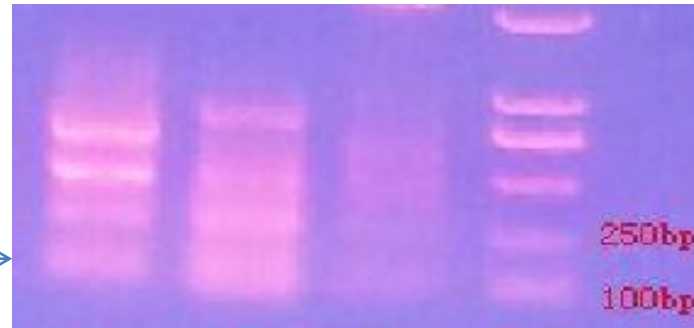
### DISPLAY

1	CATGCTCTAC	ACTGGACCCG	AAGCCCTACC	AGTGCCAGCC	CTTAAGGCTG
51	ACATGTAGTT	CTTTCAGTCT	CTCTAGTAGG	ACCACITTTCA	GCAGAGGTGC
101	CAATGTCTAC	AGTAAGAGAA	GCCAGGCATT	TAGT	TGGCAT
151	GACATCTTAA	GTCTATCAAC	AGTGACTCAC	ATGAACTGAG	CATGGTGAAC
201	CTACCAGGTT	TACAAATACC	CTGGCATTAA	AACATCCAAG	CCTCCTGATC
251	TGTTTCAGTC	CAAGTGCIGC	TTTTGCCAAC	TGAAGGTTGG	AACTGTACCA
301	TCTCTCGTGG	ATTTGTGTCT	GTAAATCTAA	ACCTGCCATG	CTGTTGTGAT
351	GGATATAAAC	CTTTAGTTTA	TGAATGCTTG	CATAATTTAT	ACAAATTGTT
401	TAACCAGAAG	CAATTGCTGC	AAGAAGTAGT	ACTAAAATCA	TATTAAATCC
451	TCATCCTGCT	CTATTTTTTT	TAATTGTTTA	AAACTCTTTG	CTTAAAAGGT
501	TGTAATTAAT	TATTTAGTA	TTATCAAAAT	GCTCTGACAA	TGTATTATAT
551	TCAGTGTGAT	CAGCTCTGAT	TAACTCTAAA	AACATTTCTT	TGATTTGAGA
601	CATTGCAAAG	CATCCATAGA	GGTATCCCAA	CAAACAATGT	AATTCAGGTT
651	TACATATAGC	ACAACTGATT	TCACAGATAT	ACCAATTAAA	AATTAACAAA
701	TGAAACCCGA	GCA			

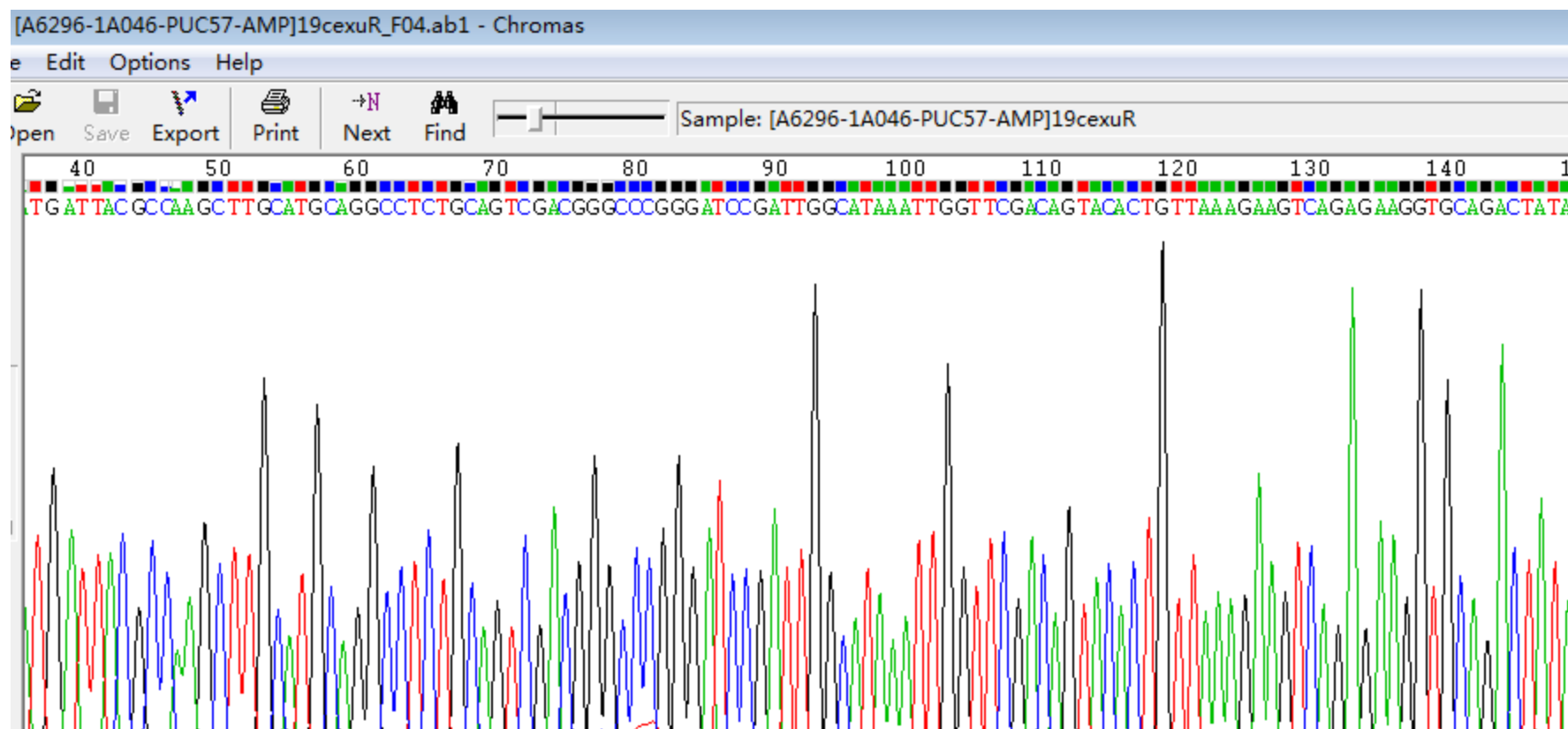
## RT-PCR扩增以及凝胶电泳图片

Chicken RT 其他客户样品

疑似目的条带




## 测序峰图



## RT-PCR产物平端连接测序之后的结果

gcagcacttggaactgaaacatccagctcaacagtaggaggctcttggggttctgcaacgggttacaggttcagtttcgcc  
aggtggctcttcaccagctgcattaagcgcagtaacacgaagtttatagtctgcaccttctctgacttctttaacagtgtga  
ctgtcgaaccaatttatgccca

## Blast之后:

 Download ▾ <a href="#">GenBank</a> <a href="#">Graphics</a>				
PREDICTED: Gallus gallus titin (TTN), transcript variant X2, mRNA				
Sequence ID: <a href="#">ref XM_421979.4 </a> Length: 99811 Number of Matches: 1				
Range 1: 44239 to 44402 <a href="#">GenBank</a> <a href="#">Graphics</a>			▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
287 bits(155)	5e-74	161/164(98%)	0/164(0%)	Plus/Minus
Query 7	CTTGGACTGAAACATCCAGCTCAACAGTAGGAGGCTCTTGGGGTTCTGCAACGGTTACAG	66		
Sbjct 44402	CTTTGACAGAAACATCCAGCTCAACAGTAGGAGGCTCTTGGGGTTCTGCAACGGTTACAG	44343		
Query 67	GTTTCAGTTTCGCCAGGTGGTCCTTCACCAGCTGCATTAAGCGCAGTAACACGAAGTTTAT	126		
Sbjct 44342	GTTTCAGTTTCGCCAGGTGGTCCTTCACCAGCTGCATTAAGCGCAGTAACACGAAGTTTAT	44283		
Query 127	AGTCTGCACCTTCTCTGACTTCTTTAACAGTGTACTGTCGAACC	170		
Sbjct 44282	AGTCTGCACCTTCTCTGACTTCTTTAACAGTGTACTGTCGGACC	44239		

# 结 论

通过RT-PCR没有检测到Inc-IRS1的表达，而检测到另外的基因mRNA（TTN）可能的原因：

- 1、由于Inc-IRS1是分段基因，从9号染色体上不同位置剪切而来，这本身就给引物设计带来困难，检测部分片段不能代表所有RNA片段。
- 2、另外一个原因，直接将客户给出的序列blast之后，可以检测以下4个同源的RNA片段，这给引物的设计也带来困难。

	score	score	cover	value		
<input type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: Meleagris gallopavo uncharacterized LOC104912568 (LOC104912568), ncRNA</a>	819	942	66%	0.0	91%	<a href="#">XR_794751.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">Apteryx australis mantelli genome assembly AptMant0, scaffold scaffold2</a>	316	535	70%	4e-82	77%	<a href="#">LK064626.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: Struthio camelus australis uncharacterized LOC104144631 (LOC104144631), transcript variant X2, ncRNA</a>	159	159	14%	8e-35	85%	<a href="#">XR_694166.1</a>
<input type="checkbox"/> <a href="#">PREDICTED: Struthio camelus australis uncharacterized LOC104144631 (LOC104144631), transcript variant X1, ncRNA</a>	159	159	14%	8e-35	85%	<a href="#">XR_694165.1</a>

# 建议

鸡Inc-IRS1的NCBI blast 比对位置信息：(分为四部分)

鸡的chromosome 9: 8446951 to 8447667 (360-1076)

鸡的chromosome 9: 8452458 to 8452634 (123-299)

鸡的chromosome 9: 8452745 to 8452868 (1-124)

鸡的chromosome 9: 8448805 to 8448869 (298-362)

- 1、设计引物RT-PCR检测5' (1-124bp) 和3'(360-1076bp)两个片段
- 2、设计RACE引物扩增以这两段已知序列为模板5'(1-124bp)和3'(360-1076bp)未知片段序列
- 3、客户给出自己的之前做PCR引物以及相关建议或者参考文献。