

RNAi 실험을 연습할 수 있는 강력한 도구 등장!!

RNAi Training Kit

TaKaRa Code 3710

20회용

RNAi(RNA interference)는 siRNA(short interfering RNA)라고 불리는 21 ~ 23mer의 double strand RNA에 의해 서열 특이적으로 유전자 발현을 억제(knock-down)하는 것을 말한다. 2001년에 Elbashir¹⁾에 의해 포유류 세포에서 siRNA에 의한 서열특이적인 발현 억제가 가능하다는 것이 증명되어, RNAi 기술을 이용한 연구가 활발해졌다.

당사에서는 「RNAi」를 이용하는 실험을 지원하기 위한 다양한 제품군을 갖고 있으며, 금번 siRNA연구를 처음 시작하고자 하는 연구자를 위하여 Training Kit를 신발매하였다.

RNAi Training Kit

일반적인 RNAi 실험 연습용 kit

본 제품은 RNAi 실험을 처음 시작하고자 하는 연구자들에게 일반적인 실험 과정(세포로의 도입→Real time RT-PCR에서의 검증)을 연습하기 위해 사용할 수 있는 제품이다. 또한 도입방법 검토 등 실험 셋업에도 이용할 수 있다.

본 kit에는 사람 GAPDH(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 유전자를 knock-down시키는 것이 확인된 siRNA와 RNAi 효과 검증용 Real time RT-PCR용 primer가 포함되어 있다. siRNA는 FITC로 표식되어 있어 Flow cytometry(FCM)로 해석하여 도입 효율을 검증할 수 있다.

Kit의 내용

- Human GAPDH knock-down용 siRNA(human GAPDH siRNA)
- Negative Control siRNA(scrambled siRNA)
- Real time RT-PCR용 primer for GAPDH(human GAPDH Primer Mix)
- Real time RT-PCR용 primer for β -actin(보정용)(human β -actin Primer Mix)

*주의: 본 kit에는 siRNA 도입 시약, RNA 조제 시약, Real time RT-PCR용 시약은 포함되어 있지 않으므로 별도 구매하시기 바랍니다. Real time RT-PCR에는 SYBR[®] RT-PCR Kit(Perfect Real Time) 사용을 권장합니다.

실험 예

[방법]

본 kit의 사용방법에 따라 293 세포에 human GAPDH siRNA 또는 scrambled siRNA를 TransIT-TKO[®]를 이용하여 도입하고 48시간 배양하고, siRNA를 도입하지 않은 세포를 대조군으로 하였다.

FCM 해석으로 siRNA의 세포내 도입 효율을 조사하고, Protein and RNA Extracion Kit for mammalian cells(PAREx Kit)를 이용해 시료에서 total RNA를 조제하고, SYBR[®] RT-PCR Kit(Perfect Real Time)을 이용하여 GAPDH 및 β -actin mRNA를 정량하였다.

[결과]

그림 1은 FCM 해석 결과이다. siRNA가 효율적으로 세포에 도입되어 있음을 알 수 있다. 그림 2는 Real time RT-PCR로 정량한 GAPDH mRNA의 상대값 그래프이다. 값은 β -actin의 mRNA 양으로 보정되어 있다. Human GAPDH siRNA의 RNAi 효과로 GAPDH mRNA가 85% 이상 감소되었음을 알 수 있다

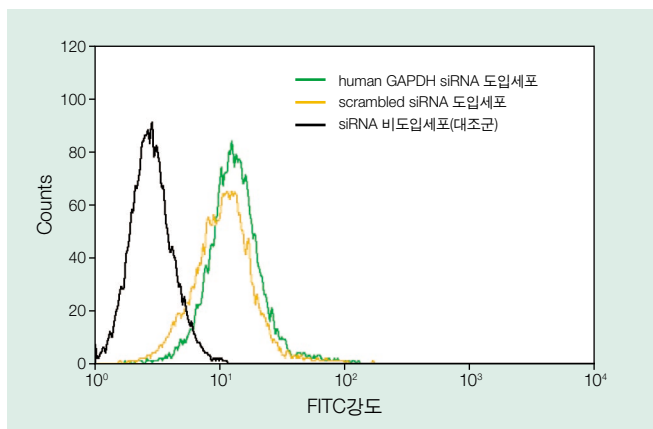


그림 1 FCM 해석으로 siRNA의 도입효율 검증
human GAPDH siRNA 및 scrambled siRNA를 도입한 세포는 비도입 세포에 비해 높은 형광강도 분포를 나타내었다.

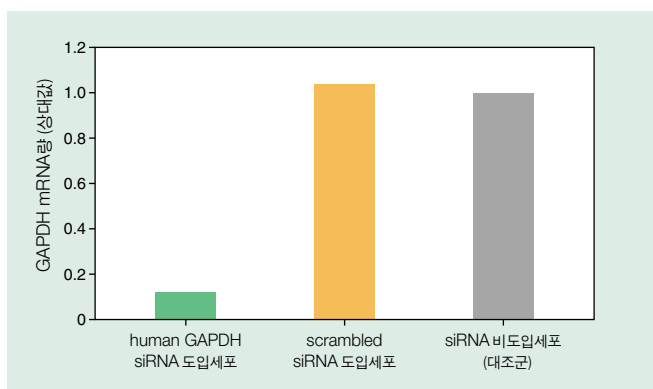


그림 2 Real time RT-PCR로 RNAi 효과 검증
human GAPDH siRNA를 도입한 세포에서는 85% 이상의 GAPDH mRNA 감소가 관찰되었다. Negative 대조군의 scrambled siRNA를 도입한 세포에서는 감소가 관찰되지 않았다. 그림의 값은 β -actin으로 보정한 GAPDH mRNA의 상대값으로 대조군의 값을 1로 하였다.