

1~2일 만에 miRNA로부터 cDNA를 조제 가능 Small RNA Cloning Kit

TaKaRa Code RR065

miRNA 등의 small RNA의 발현을 해석하는 방법 중 하나로써 cloning 해석은 매우 유용한 방법이다. 이 경우, small RNA는 mRNA와는 달리 poly A tail을 갖지 않으므로, 분리된 small RNA 분획에 대하여 그 5' 말단 또는 3' 말단에 RNA 또는 RNA/DNA chimera의 adaptor를 결합시킨 후 역전사 반응을 하고, 이를 PCR로 증폭한 후 cloning을 실시하는 방법이 채택되고 있다. 본 kit은 위의 원리를 기본으로 한 small RNA cloning용 cDNA 증폭 kit이다. 기존의 방법으로는 효소반응 후의 정제, 또는 adaptor 결합 후의 gel 추출 작업 등이 필요하며, 반응 종료까지 3~4일 정도 소요된다. 그러나 본 kit을 사용함으로써 1~2일의 간단한 조작으로 small RNA를 통한 cDNA를 증폭할 수 있다. Magnetic bead를 사용함에 따라 번잡한 gel 추출 작업은 불필요하며, 증폭한 cDNA를 그대로 TA cloning에 사용할 수도 있다. 또한, adaptor 서열 중에 있는 제한효소 site 이용한 cloning도 가능하다.

Total RNA를 전기영동법으로 gel 추출을 하는 등의 조작으로 조제된 small RNA를 본 kit을 사용하여 cloning한 경우의 flow를 <그림 1>에 나타내었다.

- ① 조제한 small RNA를 BAP 처리를 해서 5' 말단의 인산기를 제거한다.
- ② BAP 처리를 한 RNA 3' 말단에 biotin화 한 RNA/DNA chimera adaptor를 결합한다.

- ③ Streptavidin 결합 magnetic bead를 이용하여 biotin화 adaptor 결합 small RNA를 회수하고 인산화로 5' 말단에 인산기를 부여한다.
- ④ 5' 말단에 RNA/DNA chimera adaptor를 결합한 뒤 RT-primer를 이용하여 역전사 효소 M-MLV로 역전사 반응을 한다.
- ⑤ cDNA를 bead에서 회수하고 PCR을 한다.
- ⑥ PCR fragment 또는 제한 효소 처리한 fragment를 회수하고 cloning을 한다.

본 kit을 이용하여 10종류의 모델 RNA(16~30 nt)를 cDNA화하여 증폭한 다음 전기영동으로 확인한 예를 그림 1에 나타냈다. 목적 산물에 해당하는 밴드를 추출함으로써 간단하게 small RNA 유래의 cDNA를 cloning 할 수 있다.

관련제품

제품명	Size	TaKaRa Code
LabelIT [®] miRNA Labeling Kit	10회/50회	V8305/V8325
RNAiso	100 ml/200 ml	9105/9107
14-30 ssRNA Ladder Marker	25회	3416

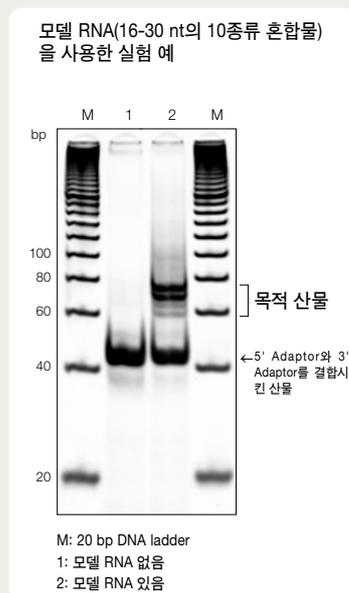
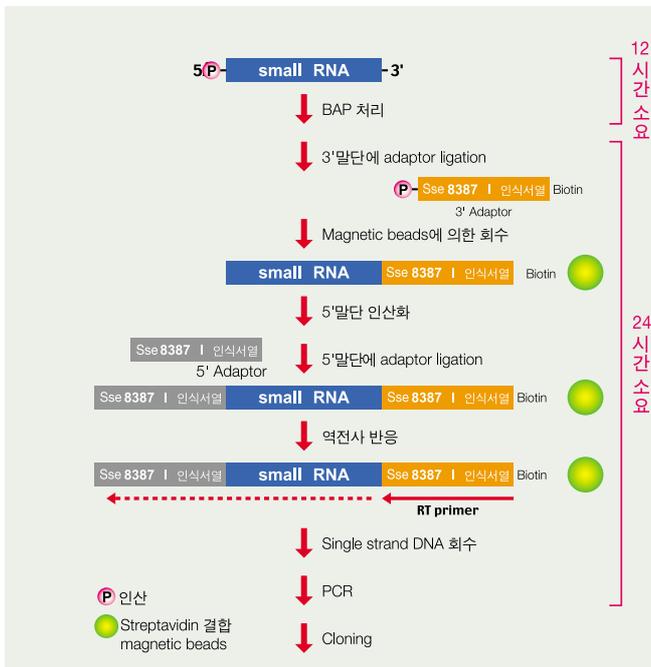


그림 1 small RNA Cloning Kit을 사용한 microRNA cloning의 Flow