

NEW method !!



microRNA の標的 mRNA 探索に

# Target mRNA Cloning Kit Wako

Target mRNA Cloning Kit Wako は微量 mRNA を cDNA 増幅するキットです。

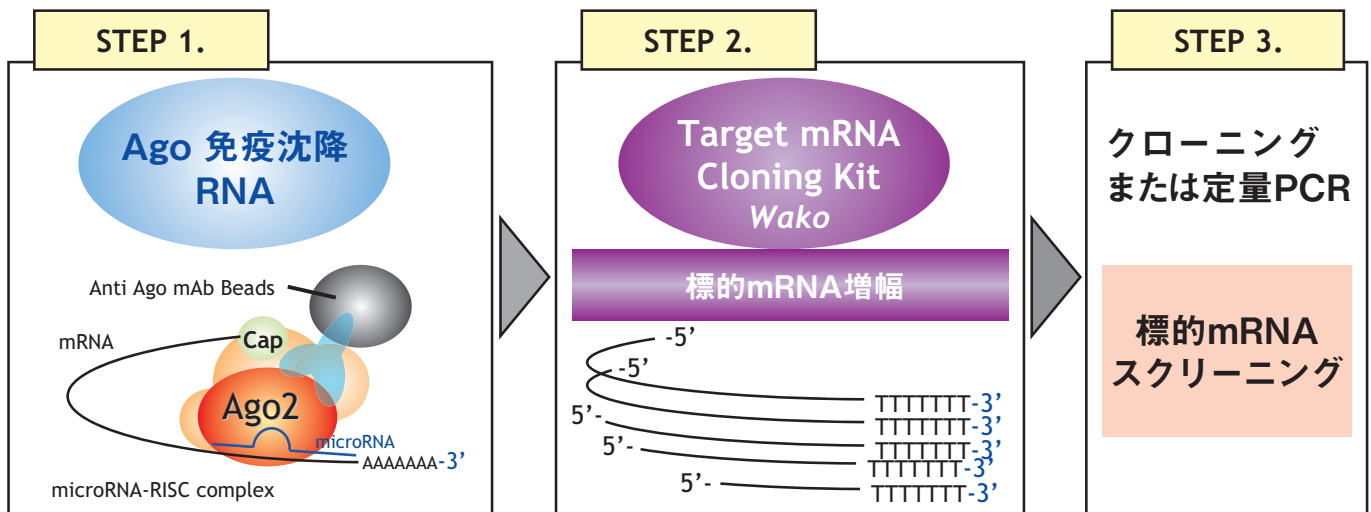
本品は、Ago タンパク質の免疫沈降 RNA 画分に存在する microRNA と相互作用する mRNA を cDNA 化することが可能なキットです。それらの mRNA から合成された cDNA をクローニングして得られた DNA 配列をもとに、microRNA の標的 mRNA 候補をスクリーニングできます。

本キットを Ago 免疫沈降法と併用することで、従来のデータベースを用いた標的 mRNA の予測法ではなく、分子生物学的手法により microRNA の標的 mRNA のスクリーニングが可能になりました。

## ■ 特 長

- シンプルなプロトコール
- mRNA 鎖長に影響されずに増幅可能
- 微量 mRNA 増幅に最適
- Ago 免疫沈降との併用で標的 mRNA 探索が可能

## ■ 本キットを用いた標的 mRNA 探索の概要



## ■ 製品情報

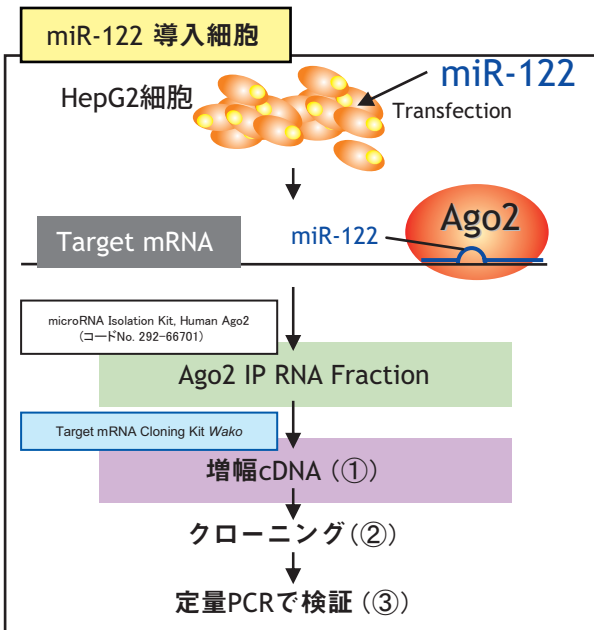
コード No.	品 名	容 量	希望納入価格 (円)
<b>New!!</b> 298-68001	Target mRNA Cloning Kit Wako	10 回用	60,000
<b>New!!</b> 291-70201	microRNA Isolation Kit, Human/Mouse Ago1	10 回用	60,000
292-66701	microRNA Isolation Kit, Human Ago2	10 回用	45,000
292-67301	microRNA Isolation Kit, Mouse Ago2	10 回用	45,000
<b>New!!</b> 297-70301	microRNA Isolation Kit, HumanAgo3	10 回用	60,000
298-67901	PCR Purification Kit Wako *	30 回用	15,000
310-80253	HOTGoldstar™ DNA Polymerase *	50units	5,600
314-80251	HOTGoldstar™ DNA Polymerase *	500units	45,000

\* Target mRNA Cloning Kit Wako と必ず併用して下さい。



# miR-122 標的 mRNA の探索例

## 実験概要



## ② 標的 mRNA のクローニング結果

本キットを使用して Ago2 IP RNA 画分からクローニングされた miR-122 の標的配列を有する cDNA クローン

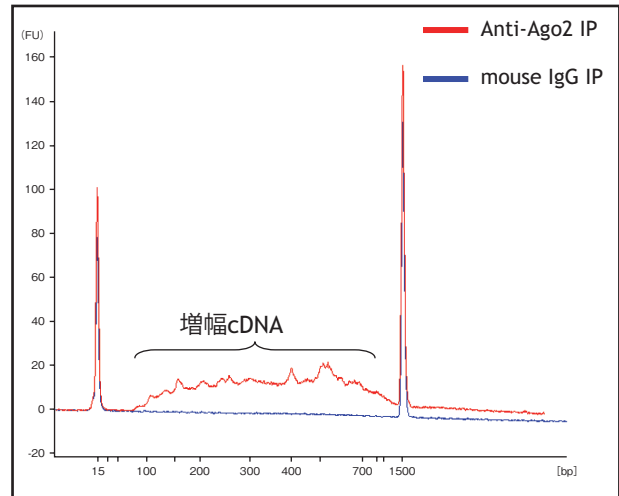
	Context Score Percentile (CSP <sup>*1</sup> )	
	80 以上	80 未満
クローニングされた遺伝子	PIGS, BRPF1, SLC7A5, PPP1R9A, SLC1A5, ALDOA, OBFS2B etc...	TACC1, DKF7p761F198, NMF6, FLJ14397, MRP63, SH3GL1, DIS3 etc...

※ 1 CSP : Context Score Percentile 標的としての妥当性を示すパラメーター値 (TargetScan)。値が 100 に近似するほど標的 mRNA としての信頼性が高いことを示す値。

※ 2 Control 細胞 miR-122 導入 HepG2 細胞のネガティブコントロールとして、ルシフェラーゼ GL3 siRNA を導入した HepG2 細胞。

## ① 増幅された cDNA の電気泳動結果

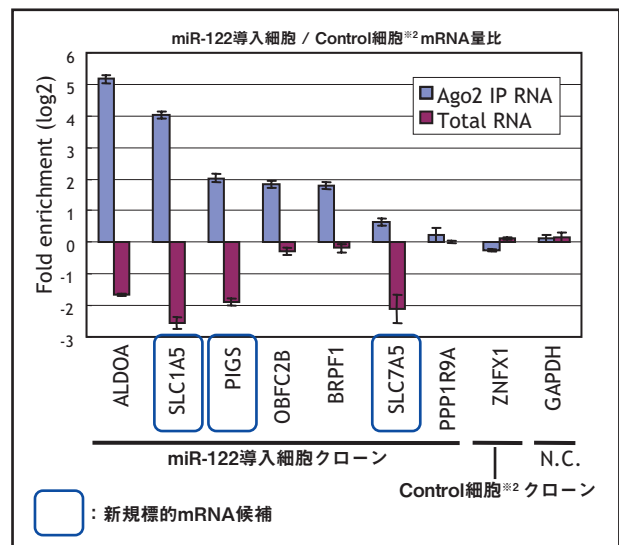
Bioanalyzer によるキャピラリー電気泳動



⇒ Ago2 IP RNA 画分特異的な増幅を確認

## ③ 定量 PCR による標的 mRNA の検証

mRNA 定量 PCR の結果 (CSP<sup>\*1</sup> ≥ 80 のクローンで検証)



⇒ miR-122 の既知標的 ALDOA に加え、新規の標的 mRNA の候補が得られた。

掲載論文はこちら!!

Hayashida, Y., et al. : A useful approach to total analysis of RISC-associated RNA., *BMC Research Notes*, 2, 169 (2009)

- 本文に記載されております試薬は、試験、研究の目的のみに使用されるもので、「衣料品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

## 和光純薬工業株式会社

本社 ☎540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 ☎(06)6203-1788(営業本部)  
 支店 ☎103-0023 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号 ☎(03)3270-8243(営業本部)  
 ●九州営業所 ☎(092)622-1005(代) ●中国営業所 ☎(082)285-6381(代)  
 ●東海営業所 ☎(052)772-0788(代) ●横浜営業所 ☎(045)476-2061(代)  
 ●筑波営業所 ☎(0298)58-2278(代) ●東北営業所 ☎(022)222-3072(代)  
 ●北海道営業所 ☎(011)271-0285(代)  
 E-mail : labchem-tec@wako-chem.co.jp  
 URL : http://www.wako-chem.co.jp  
 フリーダイヤル : 0120-052-099 フリーファックス : 0120-052-806