

### miRNA Array

Signosis 公司提供 membrane based 及 plate 型式，讓您一次篩檢至多 132 種 miRNA。SBI 公司提供 miRNA qPCR Panel，讓您一次分析與 Cancer 或 Stem cell 分化相關的 miRNA 表現。

### Mapping miRNA Network

利用 Clontech 生產的 PCR-Select Subtraction Kit 有效放大兩種樣品間有差異的基因表現，即使再小的差異也能有有效的放大。是您 Map miRNA function 的利器。

## Products

- Signosis miRNA Array
- SBI Cancer miRNA qPCR Panel
- SBI Stem Cell Panel
- SBI miRNome
- SBI microRNA Profilers
- Clontech PCR-Select Subtraction Kit
- Clontech PCR-Select Differential Screening Kit

microRNA  
特輯

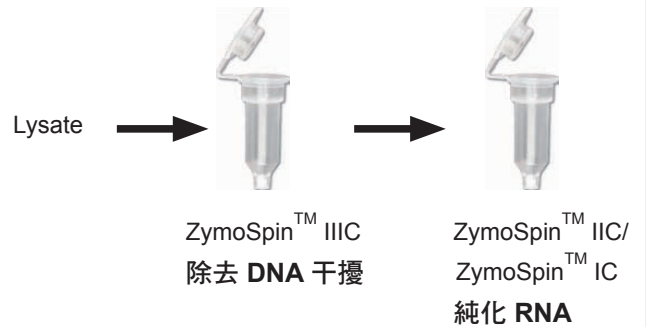


## miRNA isolation

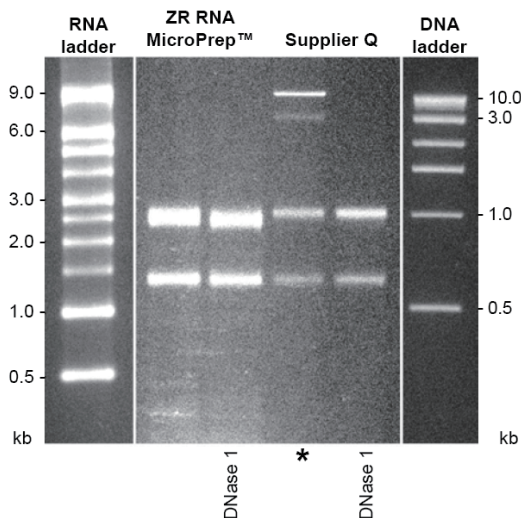
### ZR Small RNA Isolation

- 快速：10 minute 即可從樣品中分離大片段及小片段 RNA (Total RNA)。
- 樣品來源廣：細胞或組織皆可。
- 安全：不需使用 Phenol 等有機溶劑
- 濃縮：Fast-Spin column technology 讓您回溶 RNA 在極少 Elution buffer 中。( MicroPrep  $\geq 6 \mu\text{l}$  以上; MiniPrep  $\geq 25 \mu\text{l}$  )。
- RNA 純度高：( $A_{260}/A_{280} > 1.8$ ,  $A_{260}/A_{230} > 1.8$ )，可立即進行後續實驗。
- RNAlater™ compatible

### 超簡單操作步驟

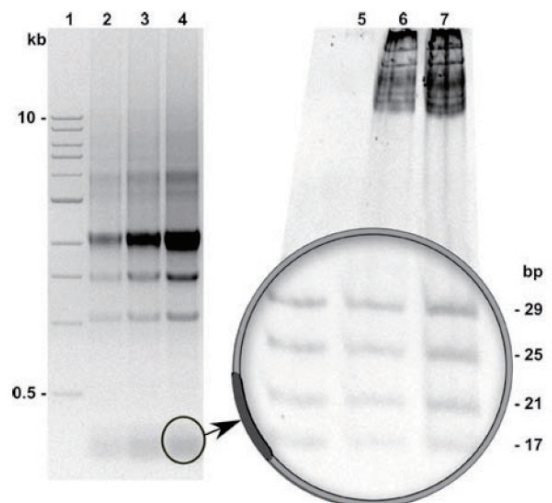


### 沒有 gDNA 汙染



Total amount of pellet ed E. coli cells containing plasmid DNA (pGEM). The sample were resolved in 2% (w/v) Agarose gel.

### Small RNA 清晰可見



Total RNA isolated using the ZR RNA MicroPrep™ were resolved in an agarose gel (2-4) and small RNAs from the same sample were also resolved in a native polyacrylamide gel (6-7). Input =  $10^5$  yeast cells spiked with  $1 \mu\text{g}$  ZR small-RNA ladder (Cat. # R1090).

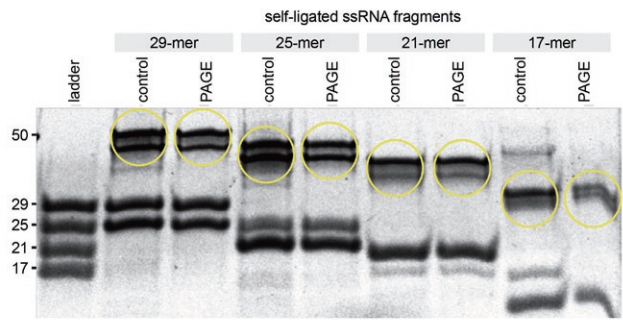
## ZR small-RNA™ PAGE Recovery Kit

- 快速：45 minute 即可從 Polyacrylamide gel 中純化小片段 RNA。
- 濃縮：Fast-Spin column technology 讓您回溶 RNA 在極少 Elution buffer 中。(≥6 µl 以上)。
- RNA 純度高：(A260/A280>1.8, A260/A230>1.8)，可立即進行後續實驗。
- Recovery 高：小片段 (17 to 28 nucleotides) 的 Recovery rate 大於 50 %。Zymo-Spin IC™ Columns 的 Binding capacity 大於 5 µg。

### Ordering information

貨號	品名	包裝
R1060	ZR Microprep	50 preps
R1064	ZR RNA MiniPrep	50 preps
R1065	ZR RNA MiniPrep	200 preps
R1070	ZR Small RNA PAGE Recovery Kit	20 preps
R1090	ZR Small RNA Ladder	10 ug

### 回收率高



Recovery and ligation of single-stranded RNA oligonucleotides. In the image above, the RNA fragments were recovered from a 17.5% (w/v) native polyacrylamide gel using the ZR small-RNA™ PAGE Recovery Kit. All fragments shown were resolved in a native PAGE gel following ligation. Ligated RNAs are circled in yellow. RNA in the gel was visualized with **GelStar® Stain (Lonza)**.

microRNA  
特輯



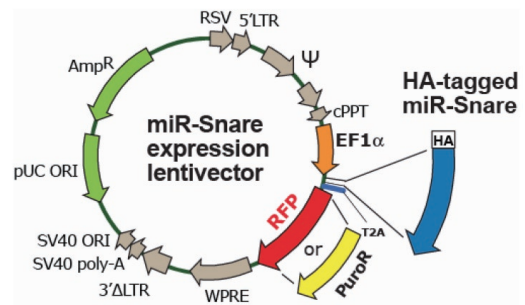
## Immunoprecipitate your miRNA

### miR-SNaREs™ vectors

miR-SNaREs 載體是帶有 HA Tag 的 miRNA Processing factor (DGCR8, DICER, AGO2) 及抗藥基因或紅色螢光蛋白。以 Lentivirus 型式，高效穩定的表現 miR-SNaREs 蛋白。利用 anti-HA 抗體作免疫共沈澱的方式將 miRNA 帶下來。

- Lentivirus based：高效穩定表現，專治 hard-to-transfect cells。
- 兩種 selection marker 任您選：螢光可觀察可 sorting，Puromycin resistant gene 可供篩藥。
- 三種 miRNA Processing factors 任您選：DGCR8 抓 Pre-microRNA，DICER 抓 hairpin miRNA，AGO2 可抓 mature miRNA 及 target mRNA。

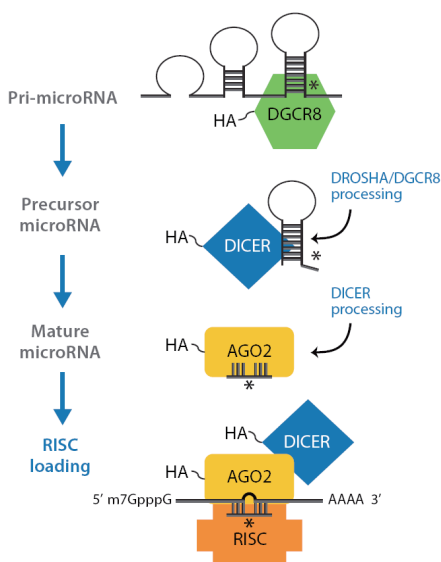
### 載體Map



### Ordering information

物種	品名	貨號
mouse	pHA-mAGO1-Puro	RA801A-1
mouse	pHA-mAGO1-RFP	RA801B-1
mouse	pHA-mAGO2-Puro	RA802A-1
mouse	pHA-mAGO2-RFP	RA802B-1
mouse	pHA-mAGO3-Puro	RA803A-1
mouse	pHA-mAGO3-RFP	RA803B-1
mouse	pHA-mAGO4-Puro	RA804A-1
mouse	pHA-mAGO4-RFP	RA804B-1
human	pHA-hDGCR8-Puro	RA701A-1
human	pHA-hDGCR8-RFP	RA701B-1
human	pHA-hDICER-Puro	RA702A-1
human	pHA-hDICER-RFP	RA702B-1
human	pHA-hAGO2-Puro	RA703A-1
human	pHA-hAGO2-RFP	RA703B-1
human	pHA-hAGO1-Puro	RA704A-1
human	pHA-hAGO1-RFP	RA704B-1
human	pHA-hAGO4-Puro	RA705A-1
human	pHA-hAGO4-RFP	RA705B-1

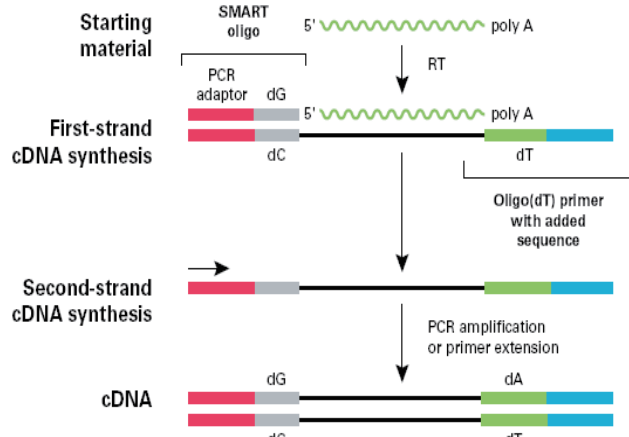
### 三種 Processing factors





RACE (Rapid Amplification of cDNA End) 是用來確認 5 端及 3 端 ORF 的序列或是用來 Clone 全長基因的方法。簡單的來說,就是想辦法把 cDNA 的兩端都接上 Adaptor; mRNA 的 3 端有 poly (A) tail, 因此要接上 adaptor 很簡單, 但是要如何把 5 端 mRNA 也接上 Adaptor 就是一個

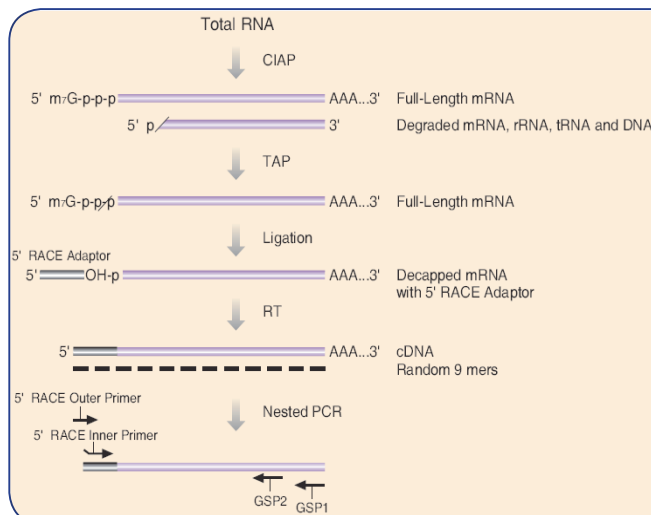
相當的難題了。目前市售有三種方法進行 5' -RACE, 分別是 SMART technology (SMART RACE)、RNA Ligation method (RLM-RACE) 及 Anchored PCR。



## SMART Technology

SMART™ 是 Switching Mechanism At 5' end of RNA Template 的縮寫, 利用 MMLV 的反轉錄酶在合成終止時具有末端加一連串 C 的特性, 在設計了末端有一串 G 的 SMART Oligo, 在 cDNA 合成終了時, SMART Oligo 會利用氫鍵黏上 cDNA 的末端, 並改以 SMART Oligo 作為 Template 合成 Adaptor (Switch Mechanism)。

**優點**: 最快 (減少 RNA 的處理時間)、最方便 (單一反應管)、最少純化步驟 (減少 RNA loss)

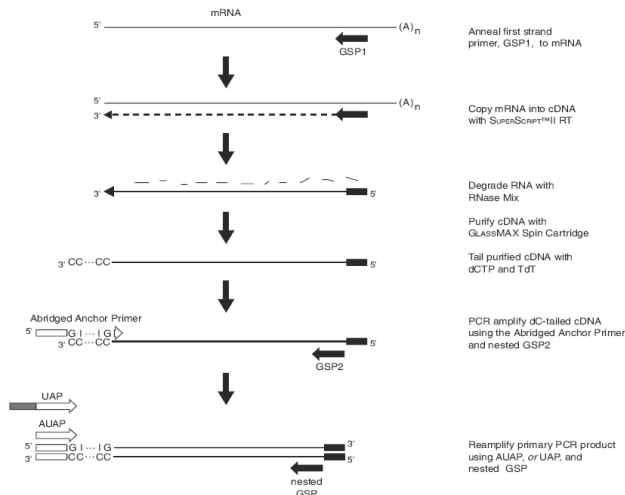


## RLM-RACE

RLM 指的是 RNA Ligation Method 也就是直接將 Adaptor 接在 RNA 上的一種方法。為了增加專一性, 首先要先用鹼性磷酸酶 (CIAP) 把所有的核酸去磷酸根, 隨後用菸草酸性焦磷酸酶 (TAP) 把 mRNA 的 Cap 結構去除, 留下磷酸根可與 Adaptor 接合。

**優點**: 可以專一性的放大 mRNA

**缺點**: 所有操作都是針對 RNA 而來, 不只純化步驟多, 其餘的流程繁複以及 Ligation 效率問題, 使得成功率很低。



## Anchored PCR Method

首先利用一個基因專一性的 Primer 作為反轉錄時的 Primer 合成第一股, 再將 RNA:DNA Hybrid 的 RNA 降解, 接著利用末端轉移酶在 cDNA 的 3 端加入 Poly C Tail, 而 abridged anchored primer 可以 Poly C Tail 互補並利用之作為 Template 把 cDNA 的 5 端合成出 adaptor, 隨後再與另外一條基因專一性的 primer 進行擴增。

**優點**: 無

**缺點**: 一次 RACE 完的 cDNA 僅能針對單一基因操作, 不只全長獲得率低、步驟繁複, 所耗費的時間也最長。



## 7 個建議選擇 Clontech SMART RACE

## ① SMART 機制超方便

使用 SMART kit，傳統兩步驟的流程，只要單管一個步驟即可完成。

## ② 只要 50 ng 的 Total RNA 即可

因為 SMART 是採用 PCR 方式合成 Adaptor，效率比較高所以僅需 50 ng 的 RNA 樣品即可。

## ③ 取得 5' 端序列更容易

專利的 SMART Oligo，選擇性的結合至 5' 端，合成 5' 端的 Adaptor，不損失 5' 端序列。

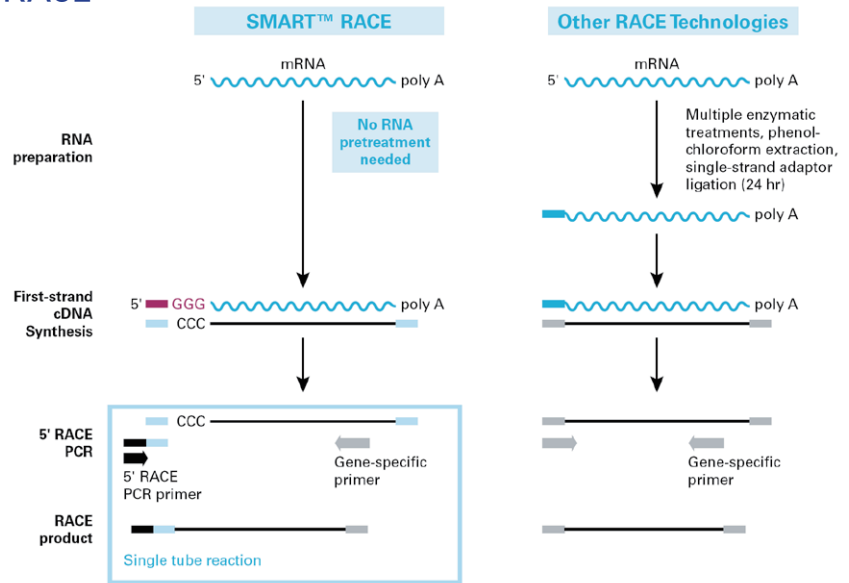
## ④ 不需 Adaptor Ligation

PCR 方式合成 Adaptor，不用隔夜反應，不用多餘純化。

## ⑤ 不需事前處理 RNA

## ⑥ 合成最長的 5' -RACE 產物

## ⑦ 擁有最多的文獻支持



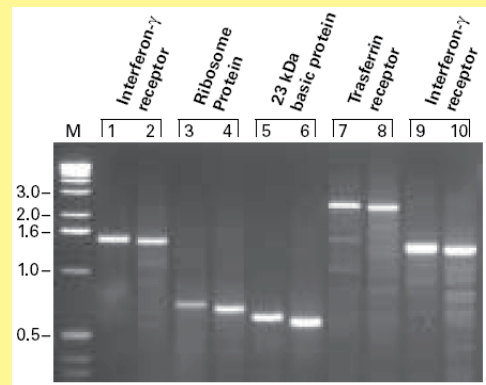
SMART RACE 與傳統 RACE 的操作流程比較

## ■ 利用 SMART 得到比 GeneBank 還要多的 5' 端序列

Table 1: Additional 5'-RACE sequence obtained using SMART™ technology

Human gene	Size of mRNA (kb)	Additional sequence (bp)*	Matches genomic sequence	Includes transcription site
Transferrin receptor	5.0	+25	yes	yes
Smooth muscle $\gamma$ -actin	1.3	+31	yes	yes
Vascular smooth muscle $\alpha$ -actin	1.3	+17	yes	yes
p53	2.6	+4	yes	yes
Interferon- $\gamma$ receptor	2.1	+14	yes	yes
Interferon- $\alpha$ receptor	2.8	+17	yes	yes

\* Compared to the longest cDNA sequence available in GenBank at the time of the experiment.



## ■ 利用 SMART 得到比 GeneBank 還要多的 5' 端序列

多篇研究指出 miRNA 具有調控基因的能力，並與致病機轉習習相關。因此，如何 identify miRNA 序列及 Clone 全長的 miRNA 序列變成為研究 miRNA 的學者的兩個重要課題。由於 miRNA 及它 target 的序列常落在非轉譯區，因此，原本用來得到全長 cDNA 片段的傳統方法 RACE 技術，因為可以同時滿足這兩種需求，反而變成了 miRNA 研究的新利器。

## 參考文獻:

- Cai, X., et al. (2004) RNA 10(12):1957-1966.
- Floyd, S.K., et al. New Applications - 以 SMART RACE clone miRNA al. (2006) Genetics 173(1): 373-388.
- Melquist, S. and Bender. J. (2003) Genes & Dev. 17(16):2036-2047.
- Taganov, K.D., et al. (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103(33):12481-12486.
- Yan, M-D., et al. (2005) Human Mol. Genet. 14(11):1465-1474.

Catalog No	Product Name	Package
634923	SMARTer RACE cDNA Amplification Kit	10 rxns
634924	SMARTer RACE cDNA Amplification Kit	20 rxns

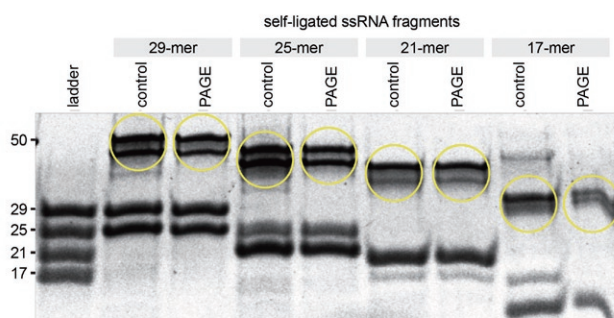
## ZR small-RNA™ PAGE Recovery Kit

- 快速：45 minute 即可從 Polyacrylamide gel 中純化小片段 RNA。
- 濃縮：Fast-Spin column technology 讓您回溶 RNA 在極少 Elution buffer 中。(≥6 µl 以上)。
- RNA 純度高：(A260/A280>1.8, A260/A230>1.8)，可立即進行後續實驗。
- Recovery 高：小片段 (17 to 28 nucleotides) 的 Recovery rate 大於 50 %。Zymo-Spin IC™ Columns 的 Binding capacity 大於 5 µg。

### Ordering information

貨號	品名	包裝
R1060	ZR Microprep	50 preps
R1064	ZR RNA MiniPrep	50 preps
R1065	ZR RNA MiniPrep	200 preps
R1070	ZR Small RNA PAGE Recovery Kit	20 preps
R1090	ZR Small RNA Ladder	10 ug

### 回收率高



Recovery and ligation of single-stranded RNA oligonucleotides. In the image above, the RNA fragments were recovered from a 17.5% (w/v) native polyacrylamide gel using the ZR small-RNA™ PAGE Recovery Kit. All fragments shown were resolved in a native PAGE gel following ligation. Ligated RNAs are circled in yellow. RNA in the gel was visualized with **GelStar® Stain (Lonza)**.

microRNA  
特輯



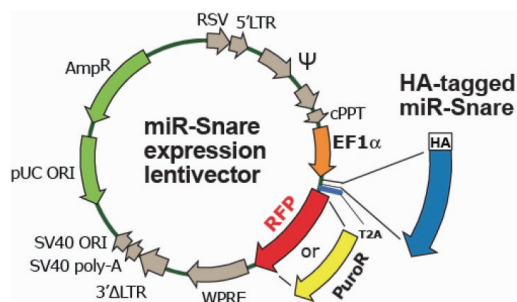
## Immunoprecipitate your miRNA

### miR-SNaREs™ vectors

miR-SNaREs 載體是帶有 HA Tag 的 miRNA Processing factor (DGCR8, DICER, AGO2) 及抗藥基因或紅色螢光蛋白。以 Lentivirus 型式，高效穩定的表現 miR-SNaREs 蛋白。利用 anti-HA 抗體作免疫共沈澱的方式將 miRNA 帶下來。

- Lentivirus based：高效穩定表現，專治 hard-to-transfect cells。
- 兩種 selection marker 任您選：螢光可觀察可 sorting，Puromycin resistant gene 可供篩藥。
- 三種 miRNA Processing factors 任您選：DGCR8 抓 Pre-microRNA，DICER 抓 hairpin miRNA，AGO2 可抓 mature miRNA 及 target mRNA。

### 載體Map



### Ordering information

物種	品名	貨號
mouse	pHA-mAGO1-Puro	RA801A-1
mouse	pHA-mAGO1-RFP	RA801B-1
mouse	pHA-mAGO2-Puro	RA802A-1
mouse	pHA-mAGO2-RFP	RA802B-1
mouse	pHA-mAGO3-Puro	RA803A-1
mouse	pHA-mAGO3-RFP	RA803B-1
mouse	pHA-mAGO4-Puro	RA804A-1
mouse	pHA-mAGO4-RFP	RA804B-1
human	pHA-hDGCR8-Puro	RA701A-1
human	pHA-hDGCR8-RFP	RA701B-1
human	pHA-hDICER-Puro	RA702A-1
human	pHA-hDICER-RFP	RA702B-1
human	pHA-hAGO2-Puro	RA703A-1
human	pHA-hAGO2-RFP	RA703B-1
human	pHA-hAGO1-Puro	RA704A-1
human	pHA-hAGO1-RFP	RA704B-1
human	pHA-hAGO4-Puro	RA705A-1
human	pHA-hAGO4-RFP	RA705B-1

### 三種 Processing factors

