

mRNA 기반 유전자 발현 분석 연구를 위한

Workflow Guide

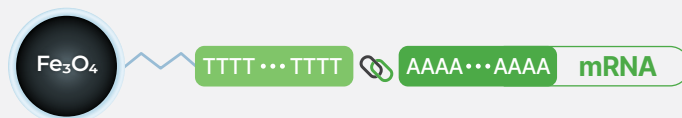


정확한 유전자 발현 분석은 mRNA에서 시작됩니다.

Total RNA 중 mRNA는 1~5%에 불과합니다.

EcoQprep™ mRNA Kit는 Oligo(dT) Bead로 RNA 중 mRNA만을 정밀하게 추출하고, 실험 결과에 영향을 주는 불순물을 제거하여 정확한 결과를 보장합니다.

Step 1 mRNA Extraction by EcoQprep™



Oligo(dT)를 사용하므로 DNase I 처리가 불필요하며, mRNA만 특이적으로 분리·정제할 수 있어 rRNA, tRNA, Genomic DNA 등에 의한 실험오류를 최소화할 수 있습니다.



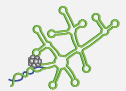
ExiPrep™ 96 Lite

유전자 발현 분석에서 핵심 추출 과정은 결과에 큰 영향을 미칩니다. ExiPrep™ 96 Lite를 활용하면 대량 샘플에서도 12분 만에 mRNA 추출이 가능합니다.

Step 2 cDNA Synthesis by RocketScript™ RTase



M-MLV at 42°C



RocketScript™ at 70°C



AccuPower® RocketScript™ RT PreMix (dT20)

Single-strand RNA의 복잡한 2차 구조는 cDNA 합성 효율을 저하시켜 실험 결과에 영향을 줄 수 있습니다.

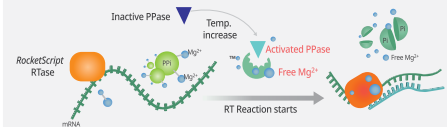
AccuPower® 키트는 dT20과 고온 안정성 효소를 포함하고 있어, 복잡한 2차 구조를 가진 RNA도 별도의 시약 추가 없이 RNA만 첨가하여 간편하고 안정적으로 cDNA를 합성할 수 있습니다.

Step 2 & 3

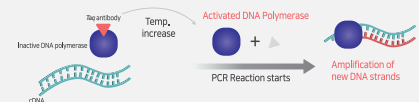
One-step RT-qPCR by
GreenStar™ & ExiCycler™ V5



RocketScript™ RTase



HotStart qPCR



복잡한 구조의 RNA를 더 정확하게!

Step 3 qPCR by ExiCycler™ V5 & GreenStar™



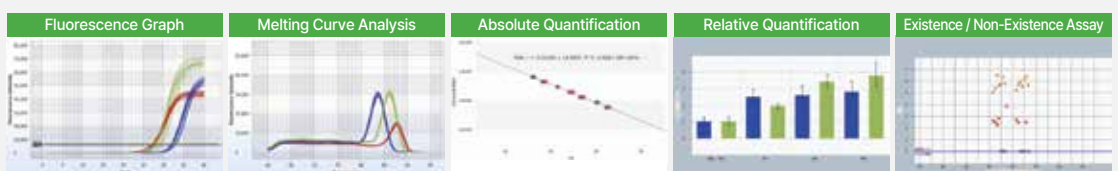
ExiCycler™ V5

Model	Ramp rate	TAT
V4	4.5°C/sec	1h 10min
V5(Fast)	10.0°C/sec	44min



빠른 Ramping rate로 반응 시간을 단축하였으며, Well 간 편차를 최소화한 광학계를 적용하여 높은 재현성을 제공합니다.

Step 4 Data Analysis



유전자 발현 분석을 위한 안정적인 시작

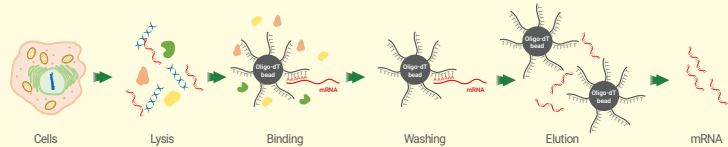
유전자 발현 분석을 위해서는 첫 추출 단계가 중요합니다.
EcoQprep™ mRNA Kit는 세포 내 불순물을 효과적으로 제거하고
온전한(Intact) mRNA를 빠르고 정확하게 추출합니다.



Key Features

고순도 & 고수율

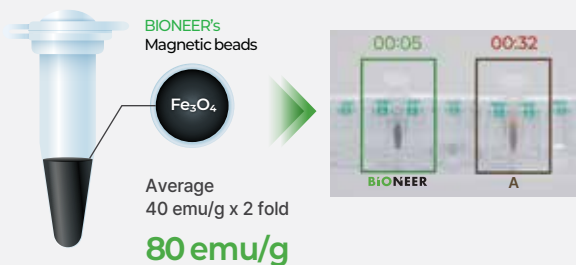
Poly(A) tail을 가진 mRNA를 선택적으로
분리하여 genomic DNA와 ribosomal RNA 등
불순물을 효과적으로 제거하여 고순도의 mRNA를 제공합니다.



빠른 추출 시간

EcoQprep™ Magnetic Separation Rack을 이용하여 원심분리 없이 10분 이내에 mRNA를 신속하게 분리할 수 있습니다.

✓ 강한 자기력을 통해 비드 포집 시간 단축, 경쟁사 대비 약 6배



✓ Spin columns 방식 대비 70% 빨라진 실험 시간

• Binding • 1st washing • 2nd washing • 3rd washing • Incubation • Elution

Column methods

EcoQprep™ **70% 추출 시간 감소**



세포부터 식물 조직까지 다양한 시료 적용 가능

Mammalian cell, Animal tissue, Plant tissue 등 다양한 시료에서 고순도/고수율의 mRNA를 추출할 수 있습니다.

Sample	Yield (μg)	Purity (A _{260/280})	mRNA : Total RNA Ratio (%)
HeLa Cell (2×10 ⁶ cells)	0.29	2.12	3.14
Mouse Liver (10 mg)	0.74	2.16	3.86
Mouse Brain (10 mg)	0.50	2.23	2.00
Broccoli (40 mg)	0.16	1.97	1.82

mRNA는 일반적으로 Total RNA의 약 1-5% 수준

Sample	Amount of Bead (mg)	Yield (μg)	Purity (A _{260/280})	Binding Capacity (μg/mg)
IVT mRNA	0.5	2.6	2.56	5.21



EcoQprep™ & ExiPrep™ 96 Lite 자동화 지원

ExiPrep™ 96 Lite 자동화 핵산 추출 시스템과 함께 최대 96개 시료의 mRNA를 단 12분이면 추출할 수 있습니다. *프로토콜 구동 시간 기준

고온에서도 안정적인 cDNA 합성

복잡한 RNA 구조에서도
정확하고 안정적인 cDNA 합성

CTRT 기술을 적용하여 RNA 2차 구조로 인한 RT 효율 저하를 개선하고, 고온에서도 안정적인 *RocketScript™* Reverse Transcriptase를 통해 효율적인 cDNA 합성을 지원합니다.



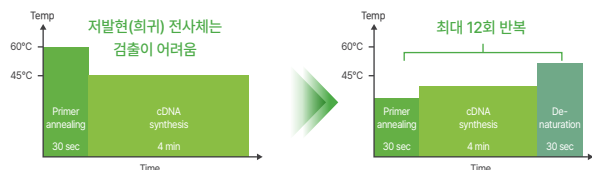
Key Features

CycleScript™ Reverse Transcriptase

RNA 2차 구조에 따른 역전사 효율 저하를 최소화하기 위해, 구조 해리와 cDNA 합성을 반복하는 CTRT 기술을 적용한 키트입니다.

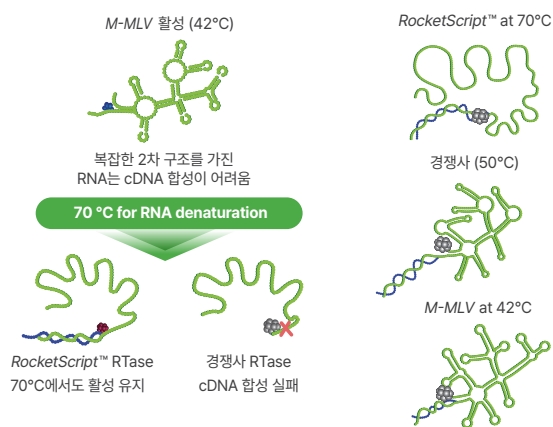
- 1 저온에서 primer annealing 진행
- 2 고온에서 RNA 2차 구조 해리 및 cDNA 합성 진행
- 3 ① - ② 단계를 반복적으로 적용 **최대 12회**

▶ 기존 역전사 반응보다 높은 효율로 cDNA 합성 가능



RocketScript™ Reverse Transcriptase

내열성 RTase를 적용하여 고온(최대 70°C)에서도 안정적인 활성을 유지하며, 복잡한 2차 구조에서도 효율적으로 cDNA를 합성합니다.

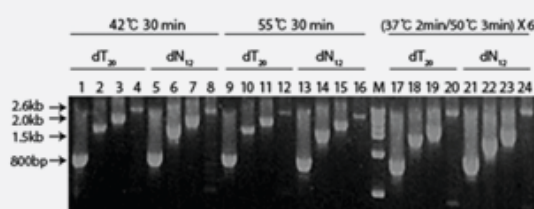


다양한 RNA 조건에서도 안정적인 cDNA 합성

- ✓ 구조가 복잡한 RNA나 GC-rich 서열
- ✓ Low input RNA (예: 10 fg human total RNA)
- ✓ 긴 서열의 full-length cDNA

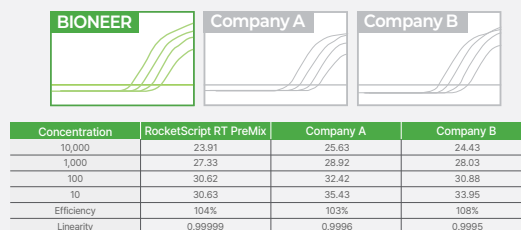
Data

Cyclic RT와 기존 RT 조건 간 반응 성능 비교



기존 고정 온도 RT (42°C, 55°C) 대비 다양한 길이의 타겟(800 bp-2.6 kb)에서 우수한 증폭 성능 확인

qPCR 민감도 평가

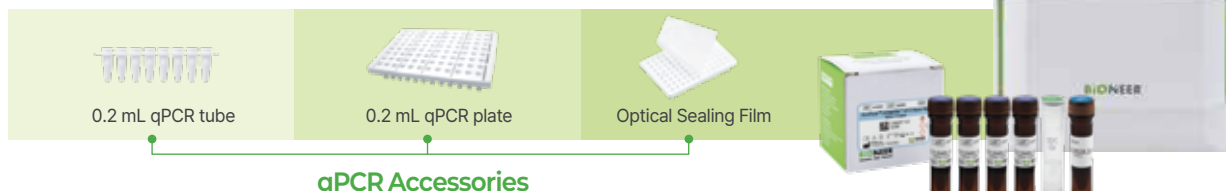


타사 RTase 대비 높은 민감도를 보이며, 낮은 농도의 샘플에서도 안정적인 cDNA 합성 및 qPCR 증폭 가능

신속한 유전자 발현 분석

낮은 발현량도
검출 가능한 높은 민감도

cDNA를 기반으로 특정 유전자를 특이적으로 증폭하고 형광 신호를 통해 정량 분석하는 단계입니다.
증폭된 결과는 Real-time PCR 시스템 ExiCycler™ V5를 통해 정확하게 확인할 수 있습니다.



Key Features

GreenStar™

dsDNA binding dye와 HotStart Top DNA polymerase를 적용하여
PCR 효율을 높인 Real-time PCR 제품

- ✓ SYBR green dye와 유사한 dsDNA binding dye 방식
- ✓ FAM/SYBR Green I 파장대 완벽 호환
- ✓ HotStart 적용으로 비특이 증폭 최소화

ExiCycler™ V5

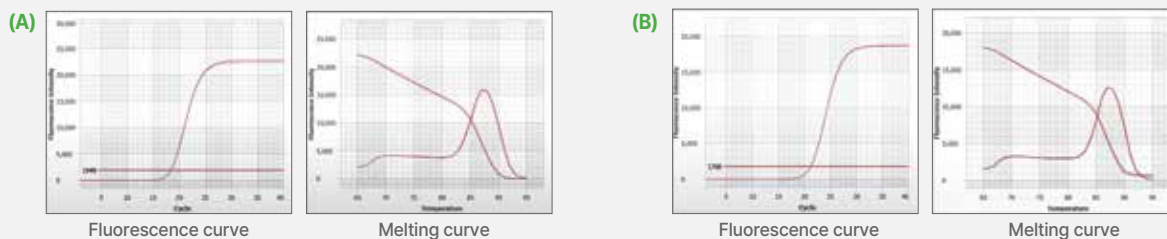
자사 특허 기술이 적용된 나노 합금 블록과 온도 제어 기술로
정확하고 빠른 실험 수행이 가능한 Real-time PCR 장비

- ✓ Reference dye (ROX) 없이도 안정적인 신호 보정
- ✓ 최대 10°C/sec의 고속 ramping으로 40 분대 빠른 PCR
- ✓ 균일한 온도 제어로 높은 재현성 확보

Direct RT-qPCR from bead-bound mRNA

EcoQprep™ mRNA Kit를 이용해 Oligo(dT) 자성 비드 기반으로 poly(A)+ mRNA를 분리한 후,
별도의 elution 과정 없이 downstream RT 및 RT-qPCR workflow에 직접 적용할 수 있습니다.

- ✓ 비드에 mRNA가 결합된 상태 그대로 RT 제품을 이용하여 cDNA 합성 가능
- ✓ One-step RT-qPCR 제품 사용 시, elution 없이 바로 RT-qPCR 수행 가능



Input HeLa cells : 1×10^4 cells Target gene: Human GAPDH gene (A) One-step RT-qPCR performance without elution (B) Two-step RT-qPCR performance without elution

Direct RT-qPCR 검증 실험 결과, One-step 및 Two-step RT-qPCR 모두에서 저해 현상(Inhibition) 없이 안정적인 증폭 효율과 타깃 특이적인 단일 melting peak를 확인하였습니다. 이는 실험 시간을 단축하고 시료 손실을 최소화하여 보다 정확하고 재현성 높은 결과를 제공함을 의미합니다.

제품 정보

카탈로그 번호	제품명	규격		
mRNA 추출				
K-3708	EcoQprep™ mRNA Kit	50 rxn		
TM-1012	EcoQprep™ Magnetic Separation Rack	1.5 mL or 2 mL tube x 12		
cDNA 합성				
K-2044/2044-B	AccuPower® CycleScript™ RT PreMix	dT20	96 / 480 tubes	20 µL / rxn
K-2045/2045-B		dN12		
K-2046/2046-B		dN6		
K-2047/2047-B		dT20		
K-2048/2048-B		dN12	50 µL / rxn	
K-2049/2049-B		dN6		
K-2050		dT20		
K-2050-1		dN12	100 tubes	50 µL / rxn
K-2050-2		dN6		
K-2051	AccuPower® CycleScript™ RT Master Mix	2X		1 mL
K-2101/2103	AccuPower® RocketScript™ RT PreMix	96 tubes		20 / 50 µL
K-2102/2104		480 tubes		
K-2105	AccuPower® RocketScript™ RT Master Mix	2X		1 mL
K-2201/2203	AccuPower® RocketScript™ Cycle RT PreMix	dT20	96 tubes	20 / 50 µL
K-2202/2204		dT20	480 tubes	
K-2205/2207		dN6	96 tubes	
K-2206		dN6	480 tubes	20 µL
K-2208/2210		dN12	96 tubes	20 / 50 µL
K-2209		dN12	480 tubes	20 µL
K-2216	AccuPower® RocketScript™ Cycle RT Master Mix	2X		1 mL
K-2221/2223	AccuPower® RocketScript™ RT PreMix, RNase H Minus	-	96 tubes	20 / 50 µL
K-2222/2224		-	480 tubes	
K-2241/2243		dT20	96 tubes	
		dT20	480 tubes	
K-2245/2246		dN6	96 tubes	
K-2247/2248		dN12	96 tubes	
K-2249	AccuPower® RocketScript™ RT Master Mix, RNase H Minus	2X		1 mL
Real-time PCR (dsDNA Binding Dye 방식)				
K-6200/6201/6202	AccuPower® GreenStar™ qPCR PreMix	ExiCycler™ V5 ABI7500/Opticon (CFX 96)	50 µL / rxn	96 rxn (8-tube strips)
K-6203/6204		ExiCycler™ V5 ABI7500		96 rxn (96-well plate)
K-6210/6211/6212		ExiCycler™ V5 ABI7500/Opticon (CFX 96)	20 µL / rxn	96 rxn (8-tube strips)
K-6213/6214		ExiCycler™ V5 ABI7500		96 rxn (96-well plate)
K-6251/6252	AccuPower® 2X GreenStar™ qPCR Master Mix	80X ROX Dye	50 µL / rxn	100 / 200 rxn
K-6253/6254		without ROX Dye		
K-6400	AccuPower® GreenStar™ RT-qPCR PreMix	ExiCycler™ V5	50 µL / rxn	96 rxn (8-tube strips)
K-6403	AccuPower® GreenStar™ RT-qPCR Master Mix	2X	2.5 mL	100 rxn