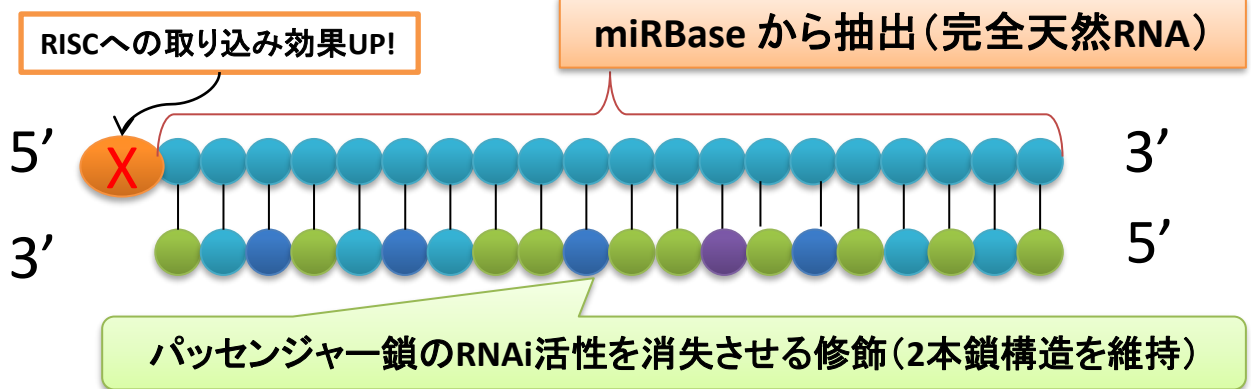


miRNA

mimic

特徴



成熟miRNAそのものの活性を見ることができます！
 (パッセンジャー鎖によるOff-target 活性を抑制)

申し込み方法

miRBaseの登録番号、miRNA
 名称、必要量をお送りください

ガイド鎖・パッセンジャー鎖の
 合成とアニーリング

約1週間※でお手元にお届け

※20nmol, 簡易精製の場合

in vivo 実験用のスケールアップもご相談ください!

20 nmol 1セット ¥39,600 (税別)

【申し込み・お問い合わせ先】

株式会社ジーンデザイン 学術営業部

tel : 072-640-5180 fax : 072-640-5181
 e-mail : gdi_info@jp.ajibio-pharma.com
 HP : <https://www.ajioligos.com/>

【販売代理店】

【miRNA mimic 合成法の選択】

1. ガイド鎖のみ RNAi 活性を発揮する配列修飾の選択

ガイド鎖を天然RNA, パッセンジャー鎖に化学修飾を施した二本鎖RNAを複数合成した。レポーターアッセイを実施し, miRNA mimic としての機能を調べた。二本鎖とも天然RNA であるものやいくつかの合成法では, ガイド鎖, パッセンジャー鎖ともに RNAi 活性を示していた(図1. #7-#10)。ガイド鎖が強い RNAi 活性を示し, パッセンジャー鎖が RNAi 活性を示さないことを指標に miRNA mimic 修飾方法を選択した。

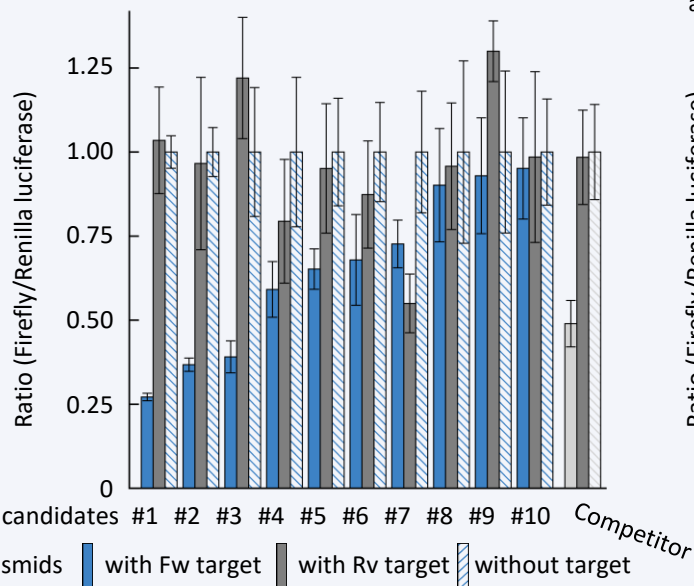


図1. レポーター遺伝子の 3'-UTR に miRNA のガイド鎖の標的となる配列 (Fw target), パッセンジャー鎖の標的となる配列 (Rv target), もしくは, 標的となる配列がない (without target) プラスミドを用い, レポーターアッセイを実施した。ここでは, 一例として miR-1 mimic に対するアッセイ結果を示している。ガイド鎖の RNAi 活性が高い miRNA mimic を左から並べている。

2. miRNA mimic による RNAi 活性の濃度依存性

1. で修飾方法を選択した, miR- 1, miR-135 mimic について濃度を変えて固相トランスフェクション法にて HeLa 細胞に導入したところ, 濃度依存的に RNAi 活性を示した(図2a)。通常のリポソームトランスフェクション法では, 0.5 nM という低濃度においても RNAi 活性を確認出来た(図2b)。

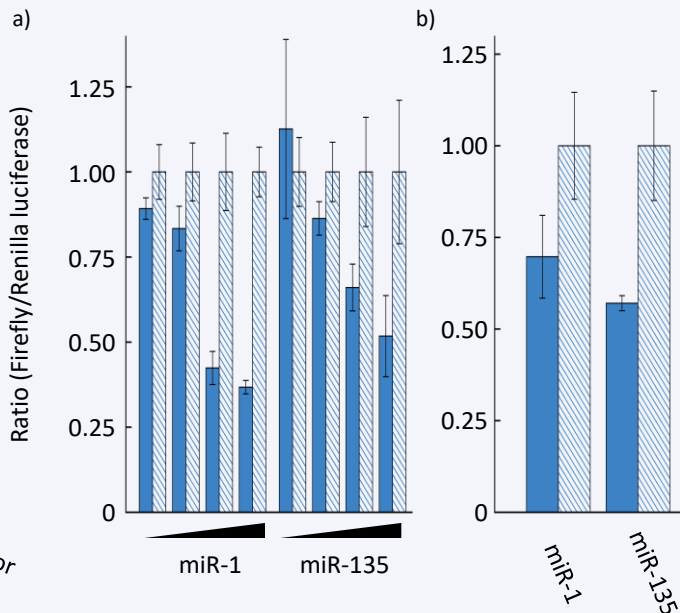


図2. a) miRNA mimic を濃度を変えて固相トランスフェクション法により HeLa 細胞に導入し レポーターアッセイを実施した。B) 0.5 nM miRNA mimic をリポソーム法により HeLa 細胞に導入し, レポーターアッセイを実施した。

【miRNA mimic 導入による細胞生存への影響 (ミニスクリーニング)】

32種のmiRNA mimics について, 細胞生存への影響を調べた(図3)。固相トランスフェクションプレートに細胞を播種することにより miRNA mimic を導入した(図3a)。細胞死を引き起こす siRNA をコントロールとして用いることで, トランスフェクション条件を決定した。A549 細胞では, 1% FBS 存在下にて培養した場合に miR-199a-5p, miR-200c-3p, miR-16-5p が生存率を低下させた。これまでに報告されている miRNA が含まれており, 選択した合成法が有効であることを示していると考えられる。

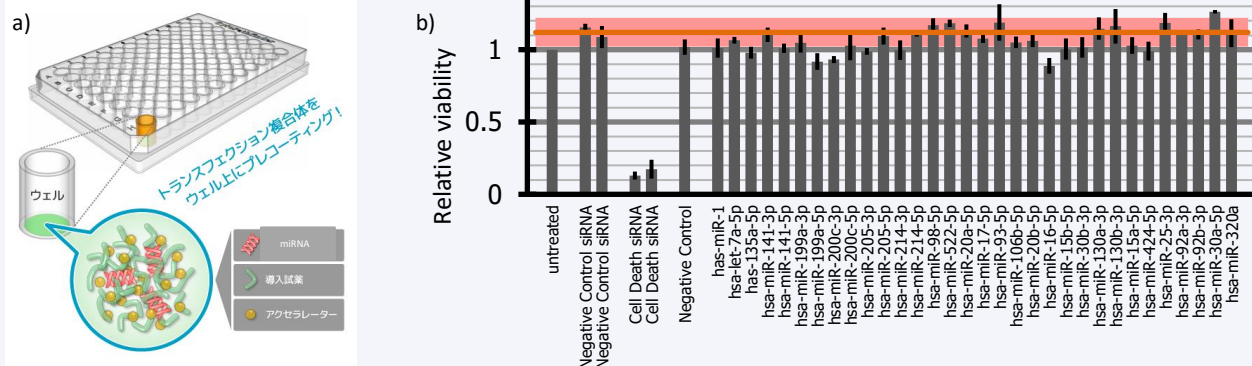


図3. miRNA mimicのA549細胞の生存率への影響を調べた。固相トランスフェクション法(a)により, miRNA mimicを導入後, 1% FBS存在下で培養した(b)。