

miR-Down™ antagomir 产品使用手册



GenePharma

上海吉玛制药技术有限公司

Shanghai GenePharma Co., Ltd



GenePharma miR-Down antagomir Product Information Sheet

产品	Mir-Down antagomir
目录号	B05001
标签号	
规格	2 OD
纯化方式	HPLC 纯化
产品形式	干粉
贮存条件	在-20℃ 或者-80℃
保存期	1 年, 在-20℃或者-80℃
质量控制	
PAGE 检测	确定产品是准确分子量大小且经过特殊化学修饰的单链的 miRNA antagomir.
HPLC 纯化	HPLC 纯化并分析单链的 miRNA antagomir. 纯度>95%
注意事项	RNA oligo 在操作过程, 如果有外源的核酸酶存在, RNA oligo容易发生降解。在进行相关试验中, 请带手套进行操作, 尽量用无RNAase污染的试剂, 试管, 移液枪和枪头。收到产品后尽快贮存在-20℃ 或-80℃环境中。
MicroRNA antagomir 的重悬	在最大转速为 4,000 X g 的低速条件下离心 EP 管, 让 miRNA antagomir 聚集在试管的底部。 1.轻轻的打开管盖. 2.1 OD加入DEPC水250ul,配成20uM的储备液 3.柔和的用移液枪吹打储备液 5 次 4.根据具体用量情况分装, 避免多次冻融 5.在重新贮存的时候注意密封好 EP 管 6.贮存在-80℃, 以备使用

MicroRNA antagomir Product

MicroRNA antagomir 介绍

Antagomir 是根据 microRNA 成熟体序列设计, 经过特殊标记与化学修饰的单链小 RNA, 是专门用于抑制内源性 microRNA 的高效阻断剂。特异的 MicroRNA antagomir 能够被导入到表达特异的 microRNA 的细胞内, 抑制 microRNA 的作用, 也可以用来抑制表达特异的内源性的 miRNA 的报告载体的表达。

抑制特异性的内源性的 miRNA

为了分析 miRNA 对生物过程和内源性的靶的作用效果, miRNA antagomirs 可以被转染入细胞评价此效应能否被逆转。

转染程序

转染效率对不同的细胞株和不同的转染试剂是不同的。我们建议 miRNA antagomir 的终浓度为 15-100nM 最优化的转染浓度最终还是需要通过试验来确定。我们发现典型的试验中最佳的浓度范围是 15-100nM, 不过优化的浓度范围可以放宽至 1-100nM 之间。

	96 孔板	24 孔板	12 孔板
转染试剂 ^A	0.2-0.5 ul	0.5-1 ul	0.5-2 ul
microRNA antagomir	3 pmol	15 pmol	30 pmol
Cell density ^C	6000 cells/well	40,000 cells/well	80,000 cells/well
Final volume per well	0.1 ml	0.5 ml	1.0 ml

A: 转染试剂的推荐量, 根据您订购的试剂不同应做适当的调整

B: 所显示的添加量是 miRNA antagomir 终浓度为 30nM 的量。由于最大 miRNA antagomir 活性的量在不同的细胞类型是有差异的, 所以推荐您自行优化。

C 对细胞密度只是推荐值, 不同的细胞株有一定的变化, 主要看细胞的大小和生长的状况, 一般来说我们推荐细胞融合度在 30-70% 为佳。

转染优化

优化转染效率是使得 miRNA antagomir 活性最大化的的最关键的一个因素之一, 对每种转染试剂而言, 首先要确定一款最合适的转染试剂, 主要看从以下几点着手处理:

- 转染试剂的量
- MicroRNA antagomir 的量
- 转染时的细胞密度
- 转染时候的操作顺序
- 细胞与转染试剂/siRNA 复合物的接触时间

体内研究 miRNA 的功能一般需要用到 Antagomir。他们的剂量随给药方式的不同有很大的差异。一般可参考给药方案如下：

体内实验 miRNA Agomir 和 Antagomir 系统给药用量参考：

建议每次给药量：

Antagomir 5—80ug/g 体重；

小鼠每次给药量(体重为 15-20g)：

Antagomi 200nmol（一般需注射 3 次）。

有效到达靶部位的给药途径：

静脉给药(6 周龄小鼠，45—150ug，连续注射 3 天，最后一次注射 24h 后检测)适合心、肝、肾、肺、肿瘤组织等血流丰富的组织器官；

呼吸道给药：适合呼吸系统；

腹腔给药：适合腹腔和盆腔内脏器，胰、脾、肾、卵巢等；

颅内给药：适合中枢神研究。

局部给药：

系统给药难以到达的部位，如表皮、皮下(肿瘤)、子宫腔等。移植瘤裸鼠模型，瘤内注射，15ug 多点注射，连续 2—4 周，每周 2 次，第一次注射 2—4 周后检测。

修饰方式：

miR-122Antagomir: 5'-AsCsAAACACCAUUGUCACACUsCsCsAs-Chol-3'