

# miR-Down™ antagomir 产品使用手册



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°C 或者-80°C
保存期	1年, 在-20°C或者-80°C
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RNase污染的试剂, 试管, 移液枪和枪头。收到产品后尽快贮存在-20°C 或 -80°C环境中。
MicroRNA antagomir 的重悬	在最大转速为 4,000 × g 的低速条件下离心 EP 管, 让 miRNA antagomir 聚集在试管的底部。 <ol style="list-style-type: none"><li>1. 轻轻的打开管盖.</li><li>2. 1 OD加入DEPC水250μL,配成20μM的储备液</li><li>3. 柔和的用移液枪吹打储备液 5 次</li><li>4. 根据具体用量情况分装, 避免多次冻融</li><li>5. 在重新贮存的时候注意密封好 EP 管</li><li>6. 贮存在-80°C, 以备使用</li></ol>

# MicroRNA antagomir Product

## MicroRNA antagomir 介绍

agomir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 15-100 nM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 15-100 nM, 不过优化的浓度范围可以放宽至 1-100 nM 之间。

	96 孔板	24 孔板	12 孔板
转染试剂 <sup>A</sup>	0.2-0.5 $\mu$ L	0.5-1 $\mu$ L	0.5-2 $\mu$ L
microRNA antagomir	3 pmol	15 pmol	30 pmol
Cell density <sup>C</sup>	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 30 nM 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 5-80 $\mu$ g/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，45-150 $\mu$ g，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，15 $\mu$ g 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'