

siRNA 발현용 벡터 시리즈-pSINsi/pBAsi 3종 promoter의 성능 비교

당사에서는 siRNA 발현용 retrovirus 벡터로 pSINsi 시리즈, 간단한 siRNA 발현용 벡터로 pBAsi 시리즈를 개발하여 판매하고 있다. 각각의 시리즈에는 3 종류의 RNA polymerase (PolIII)계 promoter (mouse U6, human H1, human U6)를 이용한 제품을 갖추고 있다. 본 고에서는 이들 3종류 promoter의 작용을 비교 평가하였다. 실험방법 등의 자세한 내용은 Life Science & Biotechnology 31호에 게재된 관련 실험을 참조하기 바란다.

siRNA 발현 retrovirus에 의한 GFP의 knock-down (K-562 세포)

pSINsi 벡터 시리즈 3종류의 promoter 작용을 비교 평가하기 위해 미리 GFP 유전자를 도입하여 안정발현을 확인한 K-562 세포에 GFP siRNA를 발현하는 retrovirus 벡터를 RetroNectin[®]법으로 감염시켜 G418 배지에서 2주간 선택 배양한 후, GFP의 형광 강도를 flowcytometer로 측정하였다. 그 결과를 Life Science & Biotechnology 31호에 소개한 NIH3T3 세포 및 HT1080 세포에서의 결과와 함께 그림 1에 나타내었다. Human의 림프계 K-562 세포주에서도 3종의 siRNA 발현 retrovirus에 의한 RNAi 효과가 확인되었다. Promoter의 작용을 살펴보면 RNAi 효과는 3종의 세포간에 공통적으로 human U6 promoter의 경우에 가장 크며, mouse U6와 human H1 promoter는 비슷한 정도임을 알 수 있다.

pBAsi 벡터에 의한 knock-down

pBAsi 벡터 시리즈 3종의 promoter 작용을 비교 평가하기 위해 NIH/3T3 (mouse), Neuro-2a (mouse), CHO (chinese hamster), KNRK (rat), RK13 (rabbit), COS-7 (monkey), HT1080 (human), 293 (human), CEF (닭의 태자섬유아세포)의 각각에 대해 GFP 발현 벡터 (pQB125)와 GFP siRNA를 발현하는 각종 변환 pBAsi 벡터를 TransIT[®]-LT1을 이용하여 co-

transfection하고, 48시간 후 GFP의 형광 강도를 flowcytometer로 측정하여 RNAi 효과를 조사하였다. 그림 2에서 알 수 있듯이 세포종류의 차이에 관계없이 일관적인 결과는 mouse U6와 human U6 promoter가 비슷한 정도로 나타났으며, human H1 promoter는 약간 약한 경향을 나타내었다.

결론

Mouse U6, human H1, human U6의 모든 promoter는 다양한 종류의 세포에서 기능하는 것으로 확인되었다. 사용목적이나 세포의 종류에 따라 3종류 중에서 선택하여 사용할 것을 권장한다.

관련제품

- pSINsi-hH1 DNA TaKaRa Code 3660 20 µg
- pSINsi-hU6 DNA TaKaRa Code 3661 20 µg
- pSINsi-mU6 DNA TaKaRa Code 3362 20 µg
- pBAsi-hH1 DNA TaKaRa Code 3220 20 µg
- pBAsi-hU6 DNA TaKaRa Code 3221 20 µg
- pBAsi-mU6 DNA TaKaRa Code 3222 20 µg

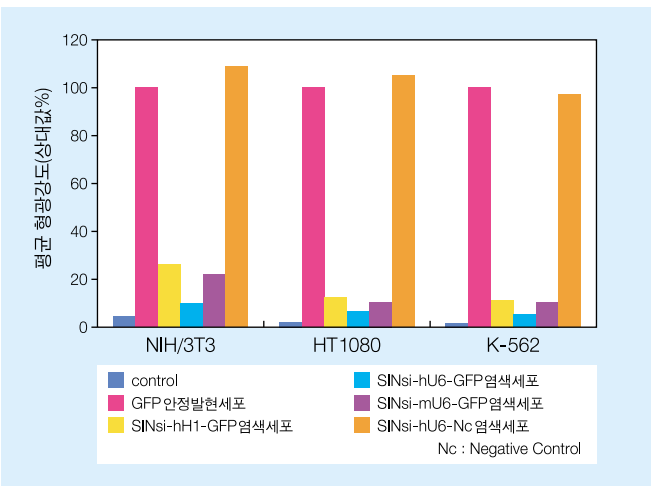


그림 1 siRNA 발현 retrovirus에 의한 GFP의 knock-down

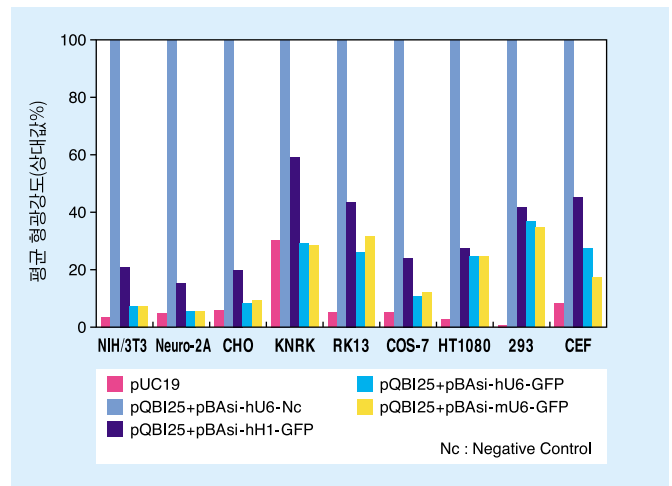


그림 2 pQB125와 pBAsi의 co-transfection에 의한 GFP의 knock-down