

IFN Response Watcher (for RNAi experiment)

제품명
IFN Response Watcher

TaKaRa Code
3720

용량
100회용

포유동물 세포 등 길이가 긴 double strand RNA(dsRNA)는 interferon을 유도하여 비특이적 전사 억제를 일으키는 것으로 알려져 있다. RNAi 실험에 이용되는 siRNA(short interfering RNA)는 짧은 dsRNA를 사용하여 interferon과의 반응을 억제함으로써, 특이적인 유전자의 발현 억제를 가능하게 한다. 그러나 최근 siRNA나 shRNA(short hair-pin RNA)가 interferon 반응을 유도할 가능성이 있다는 보고가 잇따르고 있다. 즉, 실험에 따라서는 siRNA나 shRNA 도입으로 일어난 유전자 억제가 interferon 과의 반응에 의한 것인지, 다른 반응 기작으로 일어난 것인지 반드시 확인할 필요가 있다.

본 제품은 real time RT-PCR법으로 interferon 반응 여부를 확인하기 위한 primer 세트이다. Interferon 반응으로 유전자 발현이 상승된다고 알려진 human stat1 유전자와 human oas1 유전자를 검출하기 위한 primer, 보정용 β -actin 유전자 검출용 primer, 및 control 실험용 interferon 반응 유도제로 poly IC를 포함하고 있다.

〈주의〉 본 제품의 사용에는 별도의 siRNA 도입 시약, RNA 추출 시약, real time PCR 기기 등이 필요합니다. 본 제품의 각 primer는 SYBR RT-PCR Kit(Perfect Real Time)(Code RR045A)에 최적화되어 있어 real time RT-PCR에 본 제품을 사용해 주세요.

Kit의 내용(100회분)

1. human stat1 Primer Mix (각10 μ M)	50 μ l
2. human oas1 Primer Mix (각10 μ M)	50 μ l
3. human β actin Primer Mix (각10 μ M)	50 μ l
4. polyIC (42 ng/ μ l)	100 μ l

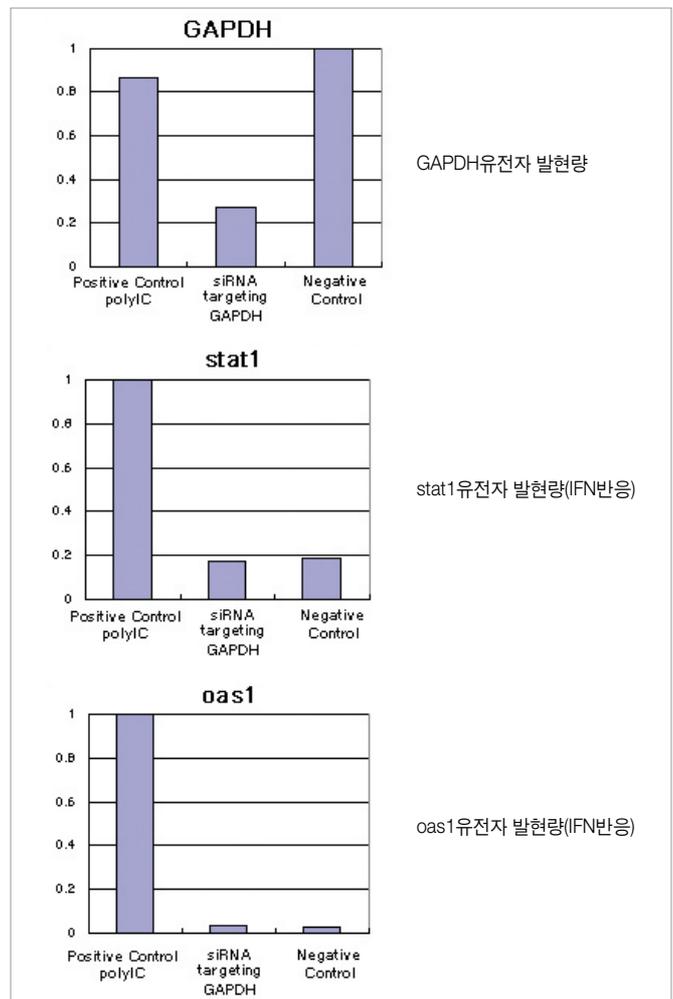
보존

-20 $^{\circ}$ C

실험 예

- 24 well plate에 293 cell를 준비한 후, TransIT-TKO를 사용하여 GAPDH(TaKaRa siRNA design support system으로 설계하여 합성)를 목적으로 하는 siRNA, 1 μ l poly IC을 도입하였다. 이때 negative control로 RNA를 첨가하지 않은 시료를 사용하였다.
- 유전자 도입이 끝난 세포를 48시간 배양한다.
- 각 세포 시료에서 total RNA를 추출하고, SYBR RT-PCR Kit(Perfect Real Time)를 이용하여 stat1, oas1, β -actin mRNA양을 정량 하였다. Perfect Real Time support system으로 검색한 primer를 이용하여

GAPDH의 mRNA도 정량 하였다. 각각의 β -actin 값으로 보정하고 시료 간 비교를 통하여 RNAi 효과 및 interferon 반응 유무를 확인하였다.



각각의 값은 β -actin의 mRNA양으로 보정되었다. polyIC를 도입한 세포에서는 IFN 반응이 유도되어 stat1와 oas1의 발현양이 증가 하였다. GAPDH를 목적으로 하는 siRNA을 도입한 세포에서는, GAPDH knock down은 일어나지만, interferon 관련 유전자의 발현 상승은 확인되지 않았다.