

# 最適なRNAi実験へのフローチャート

## in vitro transcriptionと2本鎖RNA切断酵素を用いたRNAi

RNAi効果の持続は数日でも良いから、すぐにRNAi効果を見たい方で、有効な配列の情報よりとりあえずノックダウン効果を期待される方には、in vitroで標的遺伝子の2本鎖RNAを合成し、2本鎖RNAを特異的に切断する酵素で切断したsiRNA混合物 (siRNAカクテル) を用いてノックダウンする方法をお勧めします。また、siRNAを細胞へトランスフェクションするための試薬も各種取り揃えております。

①

## 合成2本鎖siRNAを用いたRNAi

siRNA設計・合成サービスは2016年3月末日をもちまして終了しました。

RNAi効果の持続は数日でも良いから、すぐにRNAi効果を見たい方で、有効な配列の情報を知りたい方には、合成2本鎖siRNAを用いたRNAiをお勧めします。

②

## Naked vectorを用いたRNAi

一過性(数日から数十日)で良いから細胞内でsiRNAを発現させてRNAi効果を見たい方で、導入効率よりもベクター作製の簡便性を重視する方には、Naked DNAを用いたRNAiをお勧めします。タカラバイオでは、pUCベースの非常にシンプルなsiRNA発現用ベクター pBAsiシリーズを販売しており、各種プロモーターを選択して細胞内でのsiRNA発現を行うことが可能です。また、プラスミドDNAを細胞へトランスフェクションするための試薬も各種取り揃えております。なお、pBAsiで作製したsiRNA発現ベクターから、必要な部分を切り出してアデノウイルスベクターに寄せかえることが可能です。

③

## アデノウイルスベクターを用いたRNAi

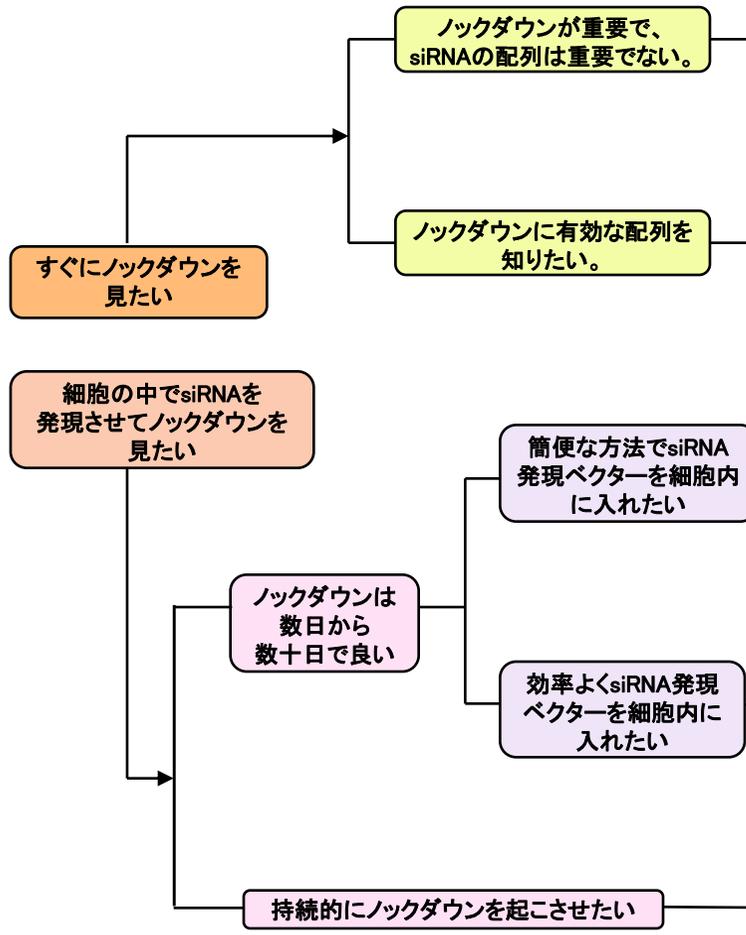
一過性(数日から数十日)で良いから細胞内で効率よくsiRNAを発現させてRNAi効果を見たい方、あるいは、in vivoで肝臓でのRNAi実験を行いたい方にはアデノウイルスベクターを用いたRNAiをお勧めします。pBAsiにsiRNA配列をクローニングしたベクターとタカラバイオのアデノウイルスベクター作製キットを用いることで、siRNA発現用組換えアデノウイルスを作製することができ、静止期の細胞にも効率よく感染し、siRNAを発現させることが可能です。なお、in vivoで肝臓でのRNAi実験を行う場合には、TransIT In Vivo Gene Delivery Systemの利用が便利です。

④

## レトロウイルスベクターを用いたRNAi

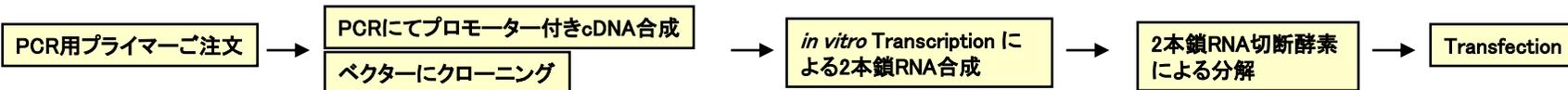
細胞内で、継続的にsiRNAを発現させ、遺伝子発現抑制細胞を取得したい方には、レトロウイルスベクターを用いたRNAiをお勧めします。タカラバイオのpSINsiベクターシリーズとRetrovirus Packaging Kitを用いると簡単にsiRNA発現組換えレトロウイルスを作製することができます。この組換えレトロウイルスを目的の細胞に感染させることで、遺伝子をstableにノックダウンさせた細胞を取得することが可能です。

⑤



# 各実験の作業手順

## ① *in vitro* transcriptionと2本鎖RNA切断酵素を用いたRNAi

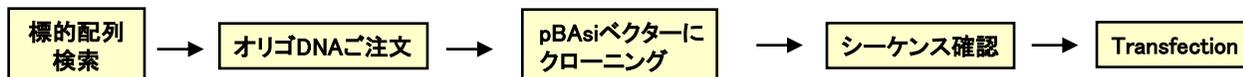


## ② 合成2本鎖siRNAを用いたRNAi

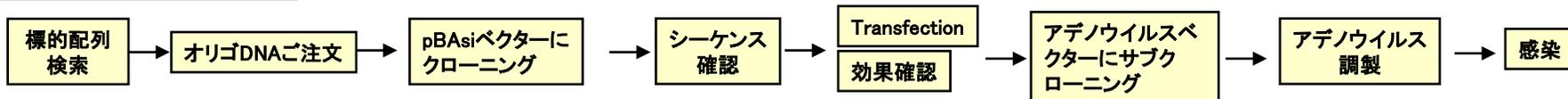
siRNA設計・合成サービスは2016年3月末日をもちまして終了しました。



## ③ Naked vectorを用いたRNAi



## ④ アデノウイルスベクターを用いたRNAi



## ⑤ レトロウイルスベクターを用いたRNAi

