

トランスフェクション試薬を使わずに細胞へ導入できる

Accell siRNA

Accell siRNA は独自の化学修飾により、トランスフェクション試薬を使わずに細胞へ導入できるsiRNAです。Accell siRNA を専用培地であるAccell siRNA delivery mediaと混ぜて細胞を培養するだけで、従来導入が難しかった細胞でもRNAi実験を可能としました

⇒トランスフェクションがうまくいかずお困りの方

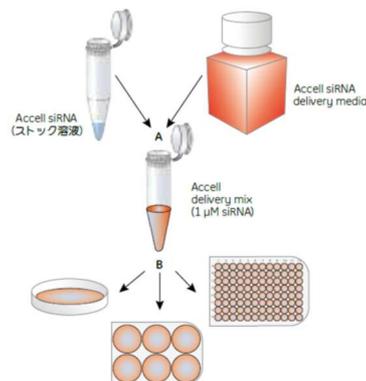
従来導入が難しかった初代培養細胞、神経細胞、免疫細胞などでも遺伝子発現のノックダウンができます。

⇒トランスフェクション試薬による細胞へのダメージにお困りの方

リピッド系トランスフェクション試薬に由来する細胞毒性がないので、細胞へのダメージを抑えられます。裏面のお客様の声をご覧ください。

⇒ノックダウン期間を延ばしたい方

ヌクレアーゼに対する安定性を高める修飾がされているため、より長いノックダウンが可能です。Accell siRNAを混ぜたDelivery Mediaでの培地交換を繰り返せば、細胞へのダメージを抑えつつ、ノックダウン期間を延ばせます。



Accell siRNA の使用方法
A Accell siRNA と Accell siRNA delivery media を混合
B 培地を Accell delivery mix と置き換え72時間培養

Accell siRNA によるノックダウン適用例が論文に掲載された細胞一覧

ARPE-19 (human retinal epithelial cells)	β-islet cells
BxPC3 (pancreatic tumor cell lines)	Bone marrow cells
C1 tumor derived cells	Bronchial smooth muscle cells (BSMC)
Caco-2 (colon colorectal adenocarcinoma)	Cardiomyocytes
CD4+ primary human T cells	Cerebellar granule neurons (CGN)
CD14+ primary monocytes	Cortical neurons
GH3 (rat somatotrophs pituitary cell line)	Endometrial cells
H9 stem cell lines	Endothelial cells
HCT-116 (colorectal carcinoma)	Extravillous trophoblasts (EVT)
HUVEC	Hepatocytes
JUN3 (plasma cell leukemia)	Immortalized B cells
MEC1 (human chronic B cell leukemia)	Keratinocytes
MN-1	Lymphocytes
MS1 (mouse pancreatic islet endothelia cells)	Macrophages
NOD CD4+CD25- splenic cells	Mantle cell lymphoma cells (MCL)
NOKA	Monocytes
OVCA 420 (ovarian carcinoma)	Mouse embryonic fibroblasts (MEF)
PGA-1 (lymphocytic leukemia B cell line)	Natural killer (NK) cell line
RAW264.7 macrophages	Neurons (primary rat)
SHSY5Y (neuroblastoma)	Oligodendrocyte precursors
SNB19 glioma cells	Pancreatic tumor cell lines
T47D (ductal breast epithelial tumor cell line)	Peripheral blood mononuclear cells (PBMC)
T98 glioma cells	Vascular smooth muscle cells (VSMC)
THP-1 monocytes	
U266 (peripheral blood B lymphocyte myeloma)	
U937 (leukemic monocyte lymphoma)	

70 報以上の論文で
ノックダウンが
報告されています。
詳しくは下記参照。
<http://dharmacon.horizon-discovery.com/uploadedFiles/Resources/accell-siRNA-ref-reading.pdf>

まずはコントロールキットで試してみませんか？

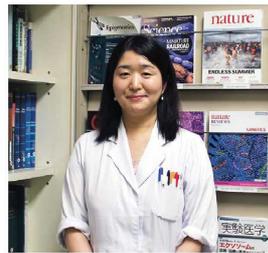
個別にそろえるよりも約**50%OFF 79,200円**

新しい実験系をはじめるとき「この試薬でうまくいくのか？」と不安はありませんか？お使いの細胞で Accell siRNA が使えるかどうか、ポジティブ/ネガティブコントロールが両方そろった Accell Control siRNA Kits で確かめてみてください。

製品	製品説明	生物種	容量
Accell Control siRNA Kits (Green) コード番号 K-005000-G1-0X	ポジティブコントロール (2種: Cyclophilin B Control siRNA, GAPD Control siRNA) ネガティブコントロール (2種: Non-targeting siRNA #1, Green Non-targeting siRNA) Accell siRNA delivery media 5 × siRNA Buffer のセット	Human Mouse Rat	ポジティブコントロール: 5 nmol ネガティブコントロール: 5 nmol Accell siRNA delivery media: 100 ml 5 × siRNA Buffer: 1.5 ml
Accell Control siRNA Kits (Red) コード番号 K-005000-R1-0X	ポジティブコントロール (2種: Cyclophilin B Control siRNA, GAPD Control siRNA) ネガティブコントロール (2種: Non-targeting siRNA #1, Red Non-targeting siRNA) Accell siRNA delivery media 5 × siRNA Buffer のセット		

トランスフェクション試薬を使わない siRNA だからこそできた遺伝子ノックダウン後の薬剤処理実験

ヒストン修飾の組合せがもつがん発生や幹細胞の万能性維持など、重要な生物学的役割について研究されている服部先生は、リポフェクション法による siRNA 導入が与える細胞へのダメージに、実験系の限界を感じておられました。そんな時に目にあったのが、トランスフェクション試薬を使わない Dharmacon Accell siRNA でした。「本当にすごいノックダウン効率」とおっしゃる服部先生に、どのような実験にお使いなのか、本製品を導入して何がよくなったのか、苦労されたことはどんなことか、について伺いました。



■トランスフェクション試薬で細胞がダメージを受けてしまう

乳がんが発現が高いエピジェネティクス関連因子を研究テーマの一つとして、これらの因子のノックダウンによるがん幹細胞の変化の解析に取り組んでいます。実験に用いた 4 種類の細胞の中には、siRNA 導入効率が低い細胞があるうえ、トランスフェクション試薬が細胞にダメージを与える問題に突き当たりました。トランスフェクション試薬だけを添加しても幹細胞マーカーの発現に変化が見られずじまいでした。

■“これは使える”トランスフェクション試薬を使わないから細胞へのダメージを抑えられる

トランスフェクション試薬を使わず細胞に siRNA を導入できる Accell siRNA を試してみることにしました。まずは試薬自体の細胞への影響を確認するため、通常の培地と Accell siRNA delivery medium のみで培養したところ、細胞は元気で、形態にも違いは見られませんでした。次に、ノックダウン効率を検討しました。正直なところトランスフェクション試薬なしで「ノックダウンできるのだろうか?」と半信半疑だったのですが、結果を見てびっくり。本当にすごいノックダウン効率でした。リポフェクション法に比べて試薬が細胞へ与える影響が少ない、細胞が死ににくい、ノックダウン効率が高い、「これは使える」と思いました。

■ノックダウン後の細胞に薬剤処理をする実験も可能に

Accell siRNA を使って、もう一つ別の実験にも取り組みました。ノックダウン後の細胞の薬剤感受性の変化の解析です。リポフェクション法で行うと、ノックダウン処理後の細胞はトランスフェクション試薬によるダメージを受けます。さらに薬剤を添加すると、細胞はボロボロになります。「この状態で評価して正しい結果がえられるのだろうか?」と考えてしまいました。薬剤処理のプロトコルや薬剤濃度は今までの実験で既に決定しているので変えたくありませんでした。しかし、Accell siRNA なら、リポフェクション法に比べて細胞の状態が良く、同じ薬剤処理のプロトコルが使えました。薬剤耐性に関わる遺伝子や調節機構の解析においても Accell siRNA は有用だと思います。

■低血清濃度 vs ノックダウン効率

ノックダウンした細胞に薬剤処理をする実験は、培養が 8 日間におよびます。Dharmacon が Accell siRNA を使用する場合に推奨する低血清濃度条件で 8 日間も培養すると細胞の生存率が下がります。かといって血清濃度をあげるとノックダウン効率が下がります。条件検討に苦労しました。最終的には Accell siRNA を添加して培養後、2 日毎に薬剤入り培地を交換するというプロトコルを基本に、短期間でノックダウンし、短期間で薬剤処理する、という方法に落ち着きました。

■1 か月以上かかる実験が 2 週間で結果が出せる

もし Accell siRNA がなかったら…shRNA を使うことになったと思います。当研究室では元々ウイルスを用いた遺伝子導入の系は動いているので、出来なくはありません。ですが、コンストラクトの作成、ウイルスのパッケージング、細胞への感染、薬剤耐性株のセレクトジョンなど、Accell siRNA に比べ手間、時間がかかります。加えて、薬剤耐性株のセレクトジョン中に特定の細胞集団だけがが増えてしまうリスクがあります。だいたい1か月ぐらひかけて作った細胞で、ノックダウン効率が低いと分かった時にはがっかりです。Accell siRNA なら 2 週間程でノックダウンできているかの確認も含めて結果を出すことができることもよい点の一つだと思います。

※ お客様の使用経験に基づく記載です。

製品名	包装*1	製品番号	価格(円)
Accell siRNA ターゲット遺伝子用			
Accell SMARTpool*2	5 nmol	遺伝子ごとの番号*4	109,700
Accell Set of 4*3	2 nmol	遺伝子ごとの番号*4	172,600
Accell Individual	5 nmol	遺伝子ごとの番号*4	58,900
Accell ポジティブコントロール siRNA			
Accell Cyclophilin B Control siRNA	5 nmol	D-001920-0X-05*5	29,500
Accell Cyclophilin B Control Pool	5 nmol	D-001920-X0-05*5	44,700
Accell GAPD Control siRNA	5 nmol	D-001930-0X-05*5	29,500
Accell GAPD Control Pool	5 nmol	D-001930-X0-05*5	44,700
Accell Green Cyclophilin B Control siRNA	5 nmol	D-001970-0X-05*5	44,700
Accell Red Cyclophilin B Control siRNA	5 nmol	D-001975-0X-05*5	44,700
Accell eGFP Control siRNA	5 nmol	D-001940-01-05	29,500
Accell eGFP Control Pool	5 nmol	D-001940-10-05	44,700
Accell ネガティブコントロール siRNA			
Accell Non-targeting siRNA	5 nmol	D-001910-0X-05*6	37,600
Accell Non-targeting pool	5 nmol	D-001910-10-05	44,700
Accell Green Non-targeting siRNA	5 nmol	D-001950-01-05	44,700
Accell Red Non-targeting siRNA	5 nmol	D-001960-01-05	44,700
Accell Control siRNA Kit(Green)	各 5 nmol のコントロール siRNA + Delivery Media + 5 x siRNA Buffer	K-005000-G1-0X	79,200
Accell Control siRNA Kit(Red)	各 5 nmol のコントロール siRNA + Delivery Media + 5 x siRNA Buffer	K-005000-R1-0X	79,200
その他			
5 x siRNA Buffer	100 mL	B-002000-UB-100	17,600
Molecular Grade RNase-free water	100 mL	B-003000-WB-100	5,800
Accell siRNA Delivery Media	100 mL	B-005000-100	3,300

*1 大容量の製品も提供しております。

*2 1つの遺伝子に対して配列デザインの異なる4種類のsiRNAを、Pool(混合物)として1本のチューブに入れた製品です。ノックダウン効率の向上と、オフターゲット効果の低減に効果があります。

*3 1つの遺伝子に対して配列デザインの異なる4種類のsiRNAをそれぞれ個別のチューブに入れ、チューブ4本で1セットとした製品です。

*4 コード番号はターゲット遺伝子により異なります。*5 XにはHuman=1、Mouse=2、Rat=3のいずれかの数字が入ります。*6 4種類の配列から選択できます。Xには1~4のいずれかの数字が入ります。

ご購入にはDharmaconユーザー登録が必要です

ホライゾンダーマコンユーザー登録

Your Horizon Contact:

ホライゾン・ディスカバリー株式会社

Tel: 03-4360-5160

Email: rnai.jp@horizondiscovery.com

Website: www.horizondiscoverykk.com



フナコシ株式会社

〒113-0033 東京都文京区本郷2丁目9番7号

http://www.funakoshi.co.jp/ e-mail: info@funakoshi.co.jp

e-mail: dharmacon@funakoshi.co.jp

お問い合わせ先: TEL 03-5684-1645 FAX 03-5684-6539

表示されている価格は2018年6月現在の標準小売価格です。消費税は含まれておりません。価格は予告なく変更される場合があります。試験研究用以外には使用しないでください。