

miRNA 干扰服务

服务内容:

- miRNA 干扰序列设计
- miRNA 干扰载体构建
- 验证干扰效率
- 有效载体扩增, 大提质粒, 直接提供转染级质粒。
- miRNA 慢病毒包装服务

价格与工期

服务名称	内容	价格	工期
miRNA 载体构建服务	设计并构建同一基因 3 个干扰载体, 免费提供阴性对照载体。	2400 元	10-15 个工作日
miRNA 构建+验证服务	设计并构建同一基因 3 个干扰载体, 验证有效性, 提供至少一条干扰序列大于 70% 的序列。免费提供阴性对照载体。	12000 元	25-30 个工作日
质粒大提服务	1000 元/质粒, 提供至少 1mg 转染级质粒 DNA。	1200 元	5 个工作日
miRNA 构建+验证+慢病毒包装服务	设计并构建同一基因 3 个干扰载体, 验证有效性, 提供至少一条干扰序列大于 70% 的序列。免费提供阴性对照载体。进行 1 个干扰载体和 1 个阴性对照载体的慢病毒包装。	32000 元	45 个工作日

订购方式:

您可以通过电子邮件或电话联系我们的专业技术人员, 我们将为您提供周到的服务。

Email: order@inovogen.com

tech@inovogen.com

Tel: 010-86661678/010-62495135

更多我们的服务请访问我们的网站:

www.inovogen.com

pRI-CMV/GFP-miRNA vector

- RNA 干扰序列设计成功率大于 70%, 比使用 shRNA 干扰载体更容易获得高效干扰序列。
- 通过采用组织特异和时间特异的启动子, 实现对 RNA 干扰时间和空间上的控制。
- miRNA 与 GFP 基因受同一启动子控制, GFP 表达量直接体现 miRNA 表达量。
- 轻易实现 miRNA 的串联。通过串联同一基因的 miRNA 可以实现干扰效率提高, 或者串联不同基因的 miRNA 实现对不同基因的同时干扰。

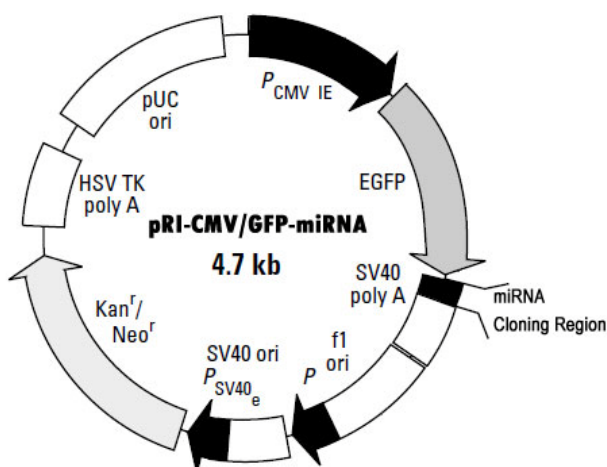


图 1: pRI-CMV/GFP-miRNA vector map

miRNA 干扰原理

pRI-CMV/GFP-miRNA 载体利用生物体内自然产生 miRNA 的机制。在 CMV 启动子作用下, 克隆到 pRI-CMV/GFP-miRNA 载体 GFP 基因下游的 miRNA 序列以原始 miRNA 的形式表达出来。原始 miRNA 在 III 类 RNA 酶 Drosha 将原始 miRNA 切割为 miRNA 前体, 并通过 Xpo-5 运送至核外。在胞浆中, 前体 miRNA 在 Dicer 的作用下成为成熟的 miRNA。最后 miRNA 参与形成 RISC, 并且与目标 mRNA 结合, 通过翻译阻滞、mRNA 切割抑制基因表达, 达到 RNA 干扰效果。

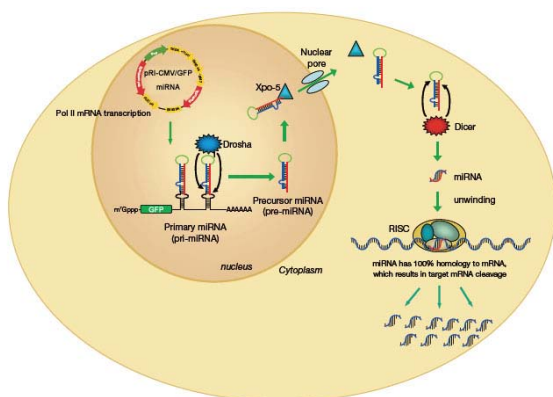


图 2 pRI-CMV/GFP-miRNA vector 干扰原理

慢病毒包装服务

目前常用的病毒载体有腺病毒、逆转录病毒和慢病毒。逆转录病毒载体只能感染分裂期细胞，而且容量有限，腺病毒一般不能整合到染色体上，只能进行瞬时感染。与其它逆转录病毒相比，慢病毒（LV）具有可以感染非分裂期细胞、容纳外源性基因片段大，可以长期表达等显著优点。慢病毒不产生任何有效的细胞免疫应答，可作为一种体外基因运输的工具。慢病毒载体介导的转基因表达能持续数月，且无可观察到的病理学现象。

英茂盛业采取第 3 代 4 载体系统构建重组慢病毒载体，包括重组慢病毒基因表达载体包装服务、重组慢病毒 miRNA 干扰载体包装服务、重组慢病毒 shRNA 干扰载体包装服务。

- **重组慢病毒基因表达载体。**我们可以使用将目的基因克隆到 CMV, C-Fos, PGK, EF1a 和 MPSV, Ubiquitin 等启动子下游。目的基因与载体中包含 eGFP 基因的共表达以便于监控宿主细胞的侵染情况。
- **重组慢病毒 miRNA 干扰载体。**采用 CMV、EF1a 或 PGK 启动子启动 miRNA 转录和表达。载体中同样包含 eGFP 基因，可以随时监测对宿主细胞的侵染情况。
- **重组慢病毒 shRNA 干扰载体。**采用 H1 或 U6 启动子启动 shRNA 的表达。

病毒表达系统	腺病毒表达系统	慢病毒表达系统	逆转录病毒
病毒基因组	双链 DNA 病毒	RNA 病毒	RNA 病毒
是否整合	病毒基因组游离于宿主基因组外，瞬时表达外源基因	病毒基因组整合于宿主基因组，长时间、稳定表达外源基因	病毒基因组整合于宿主基因组，长时间、稳定表达外源基因
感染细胞类型	感染分裂和不分裂细胞	感染分裂和不分裂细胞	感染分裂细胞,但在干细胞中表达效率低
表达丰度	高水平表达	高水平表达	高水平表达
表达时间	快 (1-2 天)	慢 (2-4 天)	快 (1-2 天)
滴度	滴度高达 1012pfu/ml	最高可达 10 ⁹ –10 ¹⁰ TU/ml	最高可达 10 ⁹ –10 ¹⁰ TU/ml
克隆容量	可插入高达 8kb 的外源片段，滴度随插入片段长度增加而降低	可插入不超过 8kb 的外源片段，滴度随插入片段长度增加而降低	可插入不超过 6kb 的外源片段
免疫原性	高免疫原性	低免疫原性	低免疫原性
动物模型	不能得到转基因动物	可产生转基因动物,效率达 50 以上	可以,但很难
启动子	可以更换特异性启动子	可以更换特异性启动子	不需要启动子
能否用于 MIRCORNA	可以	可以	不可以
能否用于四环素诱导	不可以	TET-ON, TET-OFF	不可以