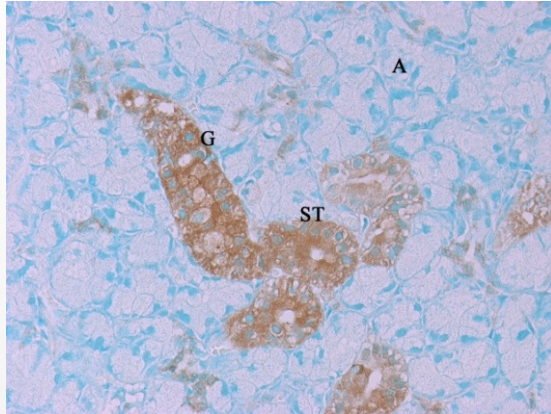


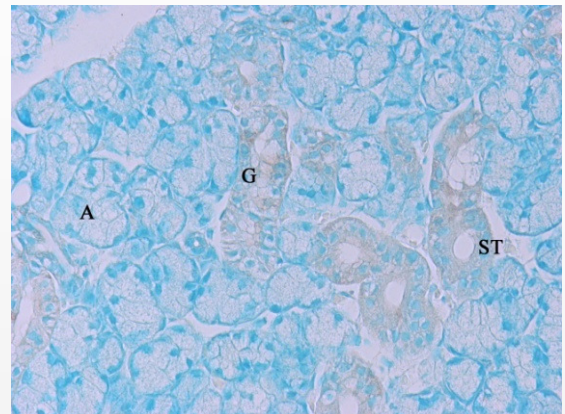
# ラット顎下腺へのsiRNAの逆行性導入 (*in vivo*)

## Ca<sup>2+</sup>依存性Cl<sup>-</sup>チャネルタンパク質(rCLCA)に特異的な発現抑制

### 免疫組織染色



非投与(コントロール)側の顎下腺



rCLCA siRNA投与側の顎下腺

ST:striated duct(線条部導管), G:granular convoluted tubule(顆粒性膨大部), A:acini(腺房)

**GenomONE-Neo** (2 Assay Unit)を用いて2 nmolのrCLCA siRNAをラット顎下腺に逆行性に投与した。導入48時間後、免疫組織染色法による検討において、siRNA投与部位におけるCl<sup>-</sup>チャネルタンパク質に特異的な発現抑制が示された。

### 顎下腺におけるCl<sup>-</sup>の再吸収抑制

処理群	唾液中のイオン濃度 (mM)		
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>
(n=11) rCLCA siRNA投与側	17.5±1.3	35.3±1.2	<b>21.6±2.2</b>
(n=11) 非投与(コントロール)側	16.7±0.9	34.6±1.3	<b>11.5±1.4</b>
(n=9) scrambled siRNA投与側	17.7±1.3	33.8±1.4	<b>14.7±2.7</b>
(n=9) 非投与(コントロール)側	18.4±1.1	32.4±1.2	11.8±2.0

Mean±SEM ★ p<0.001, ★★ p<0.05

rCLCA siRNAをラット顎下腺に逆行性に投与した。48時間後に唾液分泌刺激薬(ピロカルビン)投与下で分泌する唾液を採取し、そのイオン濃度を測定したところ、コントロール群(scrambled siRNA投与群)に比してCl<sup>-</sup>濃度が有意に高く、Cl<sup>-</sup>再吸収の特異的な抑制が確認された。Na<sup>+</sup>やK<sup>+</sup>の再吸収には影響がなかった。

**Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) をターゲットとしたsiRNAの導入においても、Cl<sup>-</sup>再吸収の特異的な抑制が確認された。**

# ラット顎下腺へのsiRNA導入プロトコル

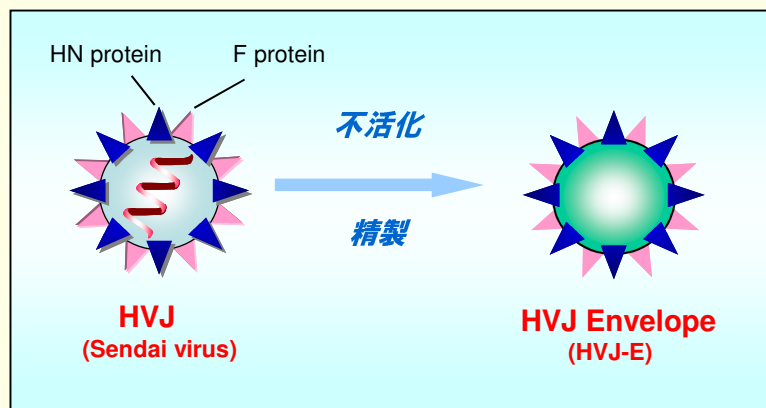
Method (第2法に準拠・試薬Cを無添加)	試薬量
HVJ-E(N)をマイクロテストチューブに分取	80μL(2AU <sup>*</sup> )
↓ 10,000 × g, 4°C、5分間遠心し上清除去	—
↓ siRNA溶液(100μM)を添加、ピペッティング(20~30回)により懸濁	20μL
↓ 試薬Bを添加・混合(タッピング)	2μL
↓ 10,000 × g, 4°C、5分間遠心し上清除去	—
↓ 生理食塩水に懸濁(ピペッティング 20~30回)	60μL
HVJ-Eベクター懸濁液	—
カニューレを用いて、ラットの片側の顎下腺に逆行性に投与。 (投与したHVJ-E懸濁液が漏れないように10分間クランプ。)	60μL
⇒ 投与48時間後に唾液分泌刺激薬(ピロカルピン)を投与し、分泌してきた唾液を採取し、その中に含まれるイオン濃度を分析。分泌後の組織は、Western Blotなどで解析	—

\*AU: Assay Unit

【データ提供】福岡歯科大学 機能生物化学講座 石橋一成 先生

【関連文献】Ishibashi K. *et al.* J. Dent. Res., **85** (12),1101-1105(2006).

## ■ HVJ Envelope (HVJ-E) とは？



HVJ Envelope(HVJ-E)は、センダイウイルス (HVJ : Hemagglutinating virus of Japan) のゲノムRNAを完全に不活化・精製し、外膜タンパク質 (HNおよびF) の膜融合活性のみを残した粒子です(増殖性・感染性はありません)。汎用される正電荷脂質系の導入試薬と異なり、膜融合を介して目的分子が直接細胞質内に導入されますので、リソソームでの分解を受けにくい利点があります。



石原産業株式会社

〒550-0002 大阪市西区江戸堀1丁目3番15号

フリーダイヤル 0120-409-816 FAX : 06-6444-7183

E-mail : HVJ-E@iskweb.co.jp

URL : <https://www.iskweb.co.jp/products/hvj-e/>