

circRNA 慢病毒表达载体

说明书

产品简介:

慢病毒 circRNA 表达载体用于在细胞中稳定表达目的 circRNA。使用时将环状 RNA 序列克隆到载体中，包装为慢病毒，再用病毒感染目的细胞。通过抗生素或者荧光筛选，筛选出稳定表达目的 circRNA 的细胞株。

研究表明，circRNA 的产生是一个缓慢的过程。由于环状 RNA 比较稳定，在一个相对长的时间内慢慢累积，从而达到较高丰度(Zhang Y, et al.Cell Rep. 2016)。因此，慢病毒系统构建稳转细胞株特别适合环状 RNA 表达研究。在细胞中稳定转入 circRNA 表达结构，长期稳定表达 circRNA，才能较好的模拟环状 RNA 的体内表达状态和功能。

产品特点:

- 环化效率高达 90%
- 在细胞中稳定表达
- 有多种标签可供选择
- 与现有慢病毒包装系统匹配

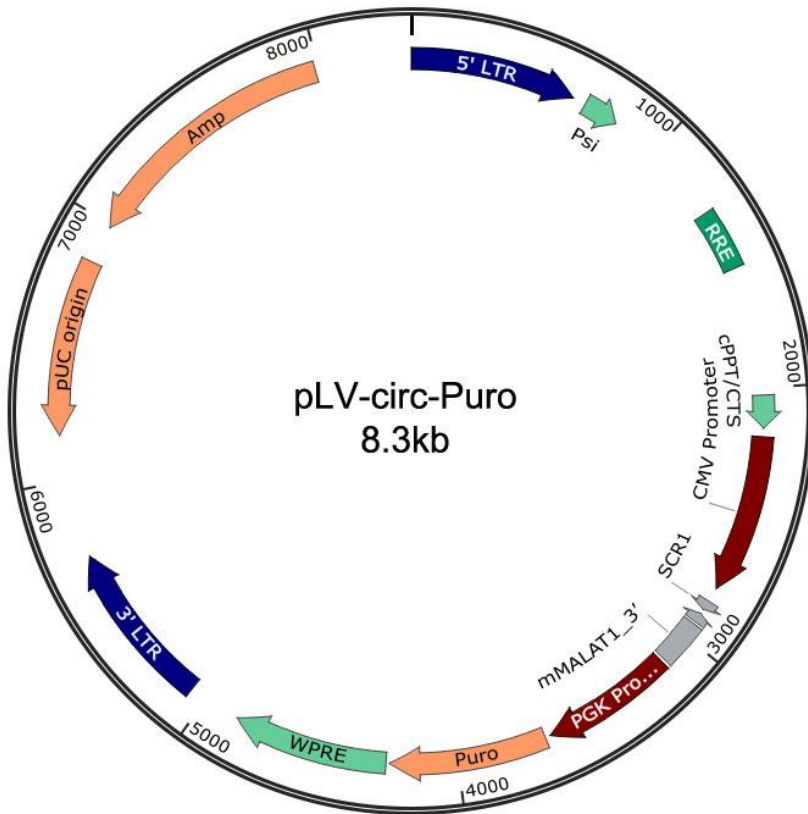
货号	品名
VL3531	pLV-circ-puro 载体
VL3532	pLV-circ-Luci(2A)puro 载体
VL3533	pLV-circ-sfGFP(2A)puro 载体
VL3534	pLV-circ-tagRFP(2A)puro 载体

相关服务

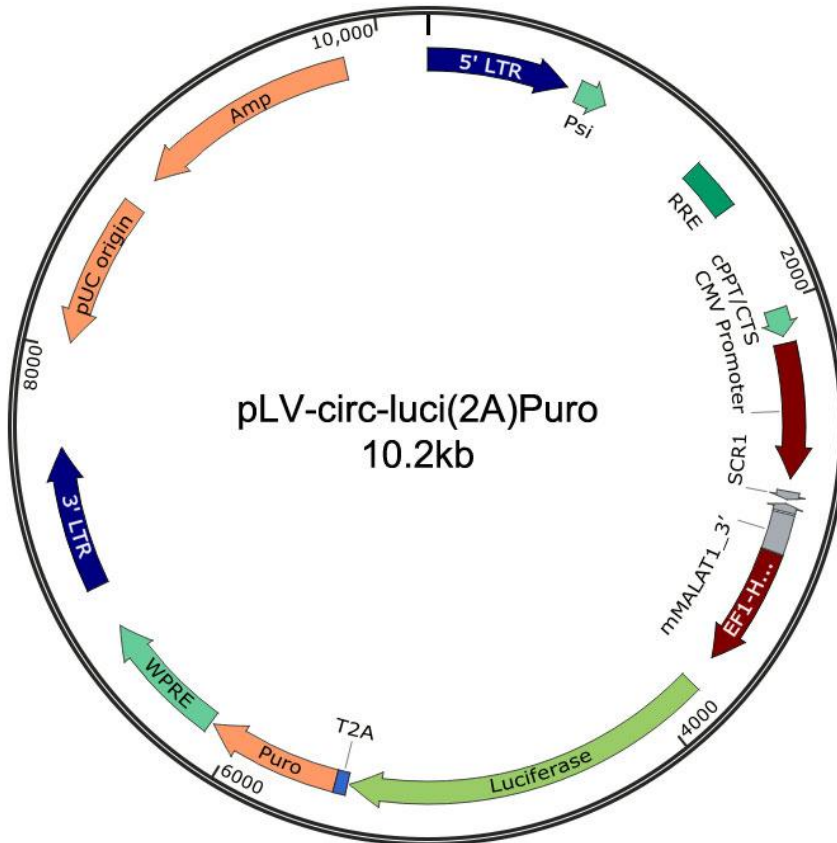
W4002	circRNA 稳转细胞株筛选服务
W1003	circRNA 慢病毒载体构建服务

载体图谱:

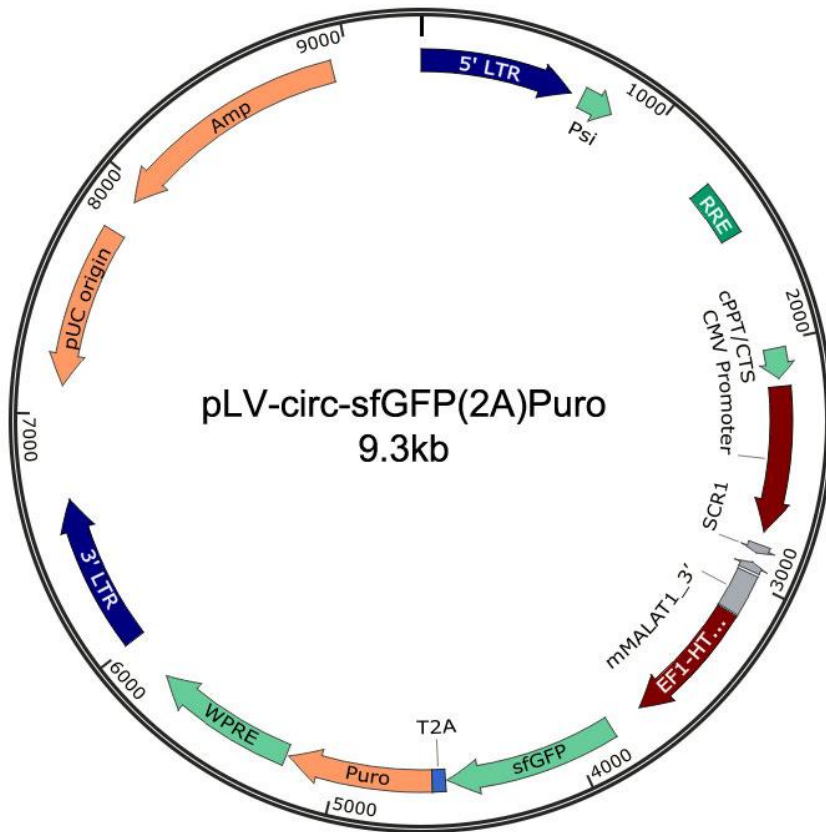
VL3531:



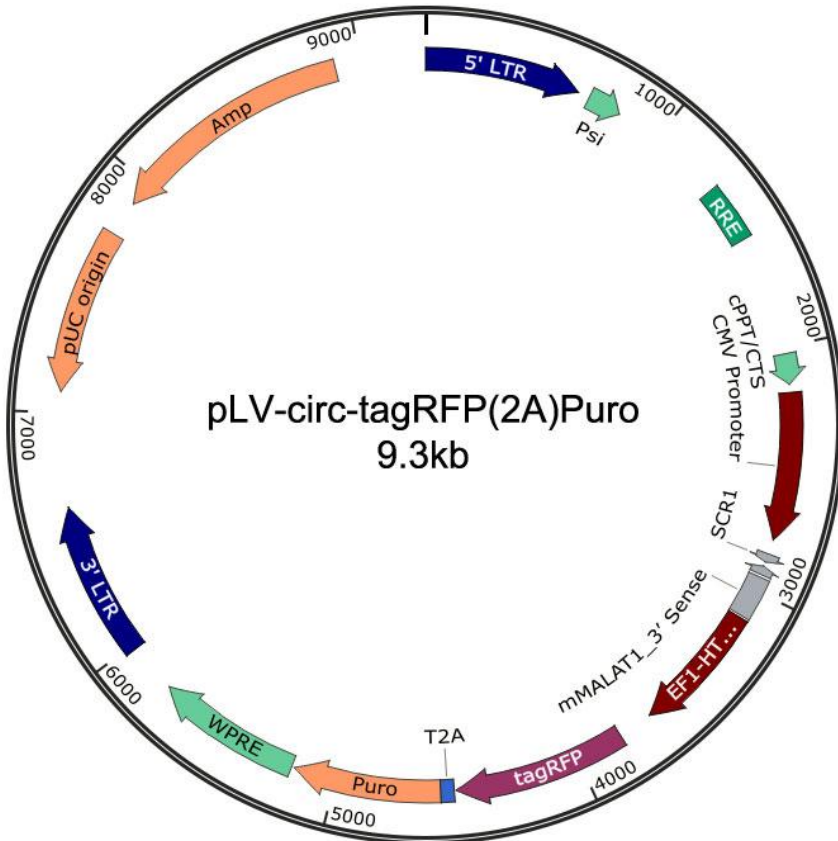
VL3532:



VL3533:



VL3534:



多克隆位点及附近序列:



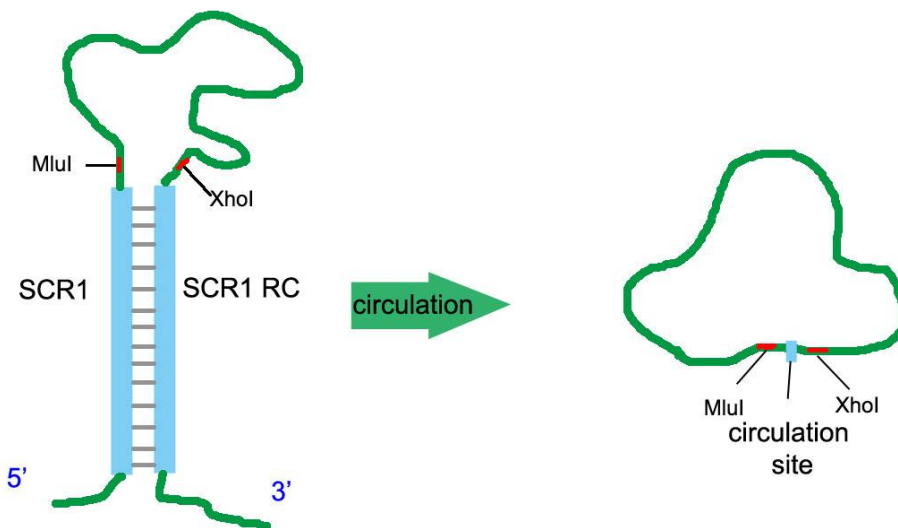
CMV promoter: CMV 启动子启动 circRNA 表达
SCR1/SCR1 RC: 优化后的反向重复序列, 促使 RNA 环化
mMALAT1_3': 促进 RNA 稳定, 提高环化效果

测序引物:

pEGFP-N-5: TGGGAGGTCTATATAAGCAGAG (正向)
circ-R: AAGAAAAACCTTTACAACCCTACT (反向)

环化方式说明:

SCR1 和 SCR1 RC 为反向互补序列。RNA 转录后, SCR1 和 SCR1 RC 相互匹配, 形成双链结构, 促使 RNA 产生环化:



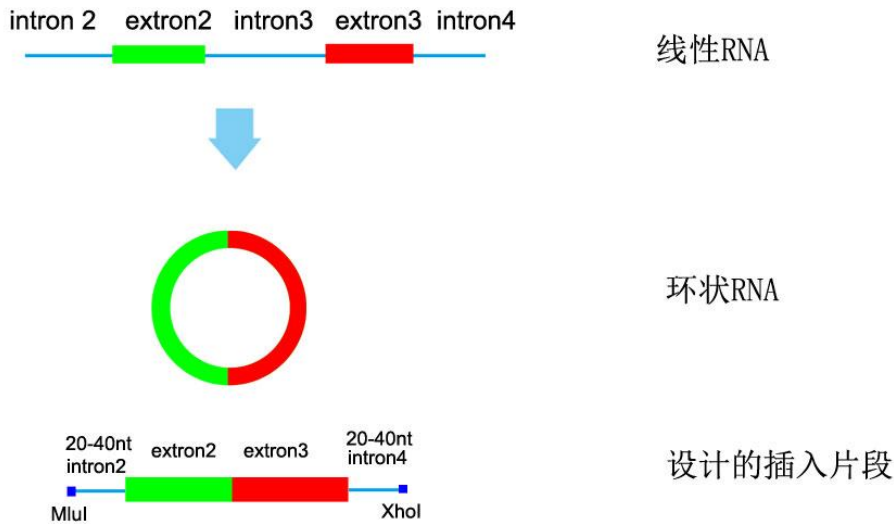
根据我们的对载体产生的环状 RNA 进行 PCR 测序结果，该载体的环化 RNA 有以下特征：

- 1、载体上的 MluI 和 XhoI 位点环化后一般会保留。
- 2、MluI 位点之前的 2-9 个碱基可能保留，数量可变，多数在 7 个以下。

circRNA 表达载体设计：

对于由外显子组成的 circRNA，推荐采用以下方法设计：

设计举例（环状 RNA 由外显子 2、3 构成）：



在 circRNA 两端保留部分相邻的内含子序列可以通过生物的内含子剪切机制，获得和预期完全一致的由外显子组成的 circRNA。

内含子剪切是一个逐渐进行的过程。进行 qPCR 检测或者 circRNA 测序均可观察到含有内含子和不含内含子的两种环状 RNA 存在。由于不同内含子的剪切效率和速度不同，二者的比例有不同。

典型的含内含子的 circRNA qPCR 检测溶解曲线：

