



## miRNA/siRNA/ASO 动物实验方案

### 产品简介

**QM miRNA agomir** 是特殊化学修饰的 miRNA 激动剂，适用于细胞实验、动物体内实验，即用型；属于 QM miRNA mimic 的升级产品，与 mimics 相比，Agomir 与细胞膜亲和力更高，适合动物体内实验，且在体内实验中具有更高的稳定性和过表达效果，可采用全身注射或局部注射等多种方式给药，操作简便。

**QM miRNA antagonir** 是特殊化学修饰的 miRNA 抗剂，适用于细胞实验、动物体内实验，即用型。属于 QM miRNA inhibitor 的升级产品，与 miRNA inhibitor 相比，antagonir 与细胞膜亲和力更高，适合动物体内干扰实验，并且在体内实验中具有更高的稳定性和抑制效果，可采用全身注射或局部注射等多种方式给药，操作简便。

**QM 化学修饰 siRNA** 作用机制基于目前研究结果表明是通过 Dicer 解链 siRNA 双链结构，反义互补 RNA 单链再利用 AGO2 和其他蛋白形成沉默复合体（RISC）对目标 RNA 进行降解。QM 化学修饰 siRNA 是特殊化学修饰的一段长 21 个核苷酸的双链 RNA，即用型。对合成的 siRNA 进行一系列化学修饰以提高 siRNA 的稳定性、降低脱靶效应。适合动物体内干扰实验，并且在体内实验中具有更高的稳定性和抑制效果，可采用全身注射或局部注射等多种方式给药，操作简便。

**QM 化学修饰 ASO** 是小核酸药物之一的反义寡核苷酸（antisense oligonucleotides）英文缩写，基于目前研究结果表明，ASO 降解 RNA 是通过单链 ASO 直接结合 RNA 在 RNaseH 作用下降解 RNA。QM 化学修饰 ASO 是特殊化学修饰的一段长 20bp 的单链 DNA-RNA Chimeras，即用型。对合成的 ASO 进行一系列化学修饰以提高 ASO 的稳定性，降低细胞毒性。适合动物体内干扰实验，并且在体内实验中具有更高的稳定性和抑制效果，可采用全身注射或局部注射等多种方式给药，操作简便。

### 使用前须知

**产品形式：**冻干粉(由于影响结晶形态的因素很多，产品外观有些差异，甚至形态无法用肉眼可见，此为正常现象)

**纯化方式：**HPLC 纯化

**运输条件：**常温运输

**储存条件：**请于-20°C ~ -80°C条件下存放，冻干粉可以稳定保存一年。

芊陌生物动物用核酸产品（agomir/antagonir/化学修饰 siRNA/化学修饰 ASO）给药方式大体可以分为局部给药，系统给药，靶向性给药。需要依据具体的实验方案，动物模型等相关信息确定给药方式，给药量，给药次数等来具体计算需要的对应核酸产品的剂量。

### 几种常见的给药方式及选择参考

常见给药方式	适应模型	备注说明
局部给药	大脑、肌肉、皮肤、骨关节、眼睛、鼻腔、耳蜗、皮下瘤、膀胱、子宫腔，鞘内，皮肤（表皮、真皮和皮下组织）等	局部给药一般通过注射、滴入、涂抹或喷雾等方式直接导入到一个特定的组织或器官中。最直接，效果佳，用量小，能快速被吸收

系统给药	循环系统（免疫系统）、作用于血流丰富的脏器（肝脏、心脏、肺脏、肾脏、脾脏，肿瘤组织）、腹腔等	系统给药一般采用静脉注射，一些无法通过具体直接给要的脏器和靶点
靶向性给药	利用载体（纳米材料，LNP, QMINAc等）将核酸药物选择性靶向病灶或者特定给药部位	低免疫原性，低细胞毒性，高靶向性

## 不同产品不同给药方式单次给药剂量参考

动物用核酸产品	通用给药剂量（单次）			
	小鼠局部给药	大鼠局部给药	小鼠系统给药	大鼠系统给药
QM 化学修饰 siRNA	1~10nmol	2~15nmol	5~20nmol	20~100nmol
QM 化学修饰 ASO	1~10nmol	2~15nmol	5~20nmol	20~100nmol
agomir	1~10nmol	2~15nmol	5~20nmol	20~100nmol
antagomir	5~20nmol	10~50nmol	50~200nmol	200~1000nmol

注：1：局部给药的推荐给药剂量为单次单个给药部位的给药剂量。

2：靶向性给药的剂量需要结合材料本身的特性（材料的包封量，包封效率，靶向性或一些其他特性等特性），以及结合是局部注射还是尾静脉注射来具体确定合适的单次给药量和给药频次。

## 不同给药部位及给药方式的给药体积参考

给药体积	小鼠	大鼠
颅内（海马体）注射	1~4 uL	2~5 uL
眼部（玻璃体）注射	1~2 uL	1~3 uL
尾静脉注射	50~150 uL	100~200 uL
腹腔注射	100~200 uL	200~300 uL
皮下瘤注射	10~50 uL	10~100 uL

## 动物用核酸产品给药操作指导示例（局部+系统给药）

### 1：系统给药通用操作指导（以肝脏部位原位瘤模型为例）

系统给药：适应模型：循环系统（免疫系统，血液循环系统）、作用于血流丰富的脏器（肝脏、心脏、肺脏、肾脏、脾脏）此类疾病模型，建议尾静脉给药。

#### 1) 注射体积和计量（以miRNA agomir尾静脉注射小鼠为例）

通过尾静脉注射，小鼠建议每次注射体积 50-150 $\mu$ l 左右；对于初次操作的人员，可用 Balb/c 小鼠练习尾静脉注射操作，注射灭菌后的 PBS 或者注射用生理盐水。

小鼠/裸鼠（20g 体重）miRNA agomir/化学修饰 siRNA/ASO 推荐剂量：每次每只小鼠/裸鼠注射 5~20nmol；miRNA antagomir 推荐剂量：每次注射 50~200nmol。

#### 2) 注射剂的配制

以 10 nmol agomir 冻干粉一管为例，瞬时离心后直接加入 50ul-150ul 葡萄糖注射液或注射用生理盐水/灭菌的 1xPBS 进行稀释。



例如实验组为 6 只小鼠，对照组 6 只小鼠为例，具体依据客户自身的实验情况来确定分组和每组的动物数量，以用量为 10nmol agomir / agmir NC/只小鼠为例。

注射时，以 10 nmol agomir /agmir NC 冻干粉一管为例，先瞬时离心，然后开盖每管 agomir / agmir NC 直接加入 50ul~150ul 注射用葡萄糖注射液/注射用生理盐水/灭菌的 1xPBS，枪头轻缓吹打，充分混匀稀释溶解 agomir / agmir NC。

然后将溶解后的 50ul-150ul 的 agomir /agmir NC 的葡萄糖/注射用生理盐水溶液/灭菌的 1xPBS 进行尾静脉注射，刚好一支 agomir / agmir NC 注射一只小鼠/裸鼠。

推荐每隔 3-4 天给药一次。如果需要时间拉长到一周给药一次，最好按照单次建议的给药剂量范围的大剂量进行给药为佳，条件允许的情况下更推荐每隔 3/4 天给药一次为佳，或每 2 周做一次连续 3 天注射。

注：miRNA agomir /antagonmir /化学修饰 siRNA/ ASO 由于涉及多种化学修饰，避免反复冻融。尽量按照单次/单次单只动物的给药剂量来进行分装。

### 3) 注射时间

针对急性模型（作用时间小于一周），建议单次大剂量注射；

针对慢性模型（作用时间超过一周），建议中低剂量多次给药，每隔 3-4 天注射一次加强效果。如果给药需要持续的时间 4 周以上，可以考虑大剂量每周给药一次，或者每 2 周做一次连续 3 天注射。

注：以上数据来源于大量科研工作者的实验结果，由于miRNA/mRNA/lncRNA/circRNA本身丰度差异大，作用的部位不一，目前动物实验的agomir/antagonmir/化学修饰siRNA/化学修饰ASO注射剂量无法建立统一标准，科研人员可根据我们的推荐剂量结合预实验的初步结果进行调整。

### 4) 剂量计算（系统给药）

**每一个目标agomir/antagonmir/siRNA/ASO的给药剂量计算如下：**

**agomir/siRNA/ASO 的给药剂量 = (5~20) nmol/只小鼠/次 x a 只小鼠 x b 次给药/只小鼠=x nmol**

**agomir NC/siRNA NC/ASO NC 的给药剂量计算同 agomir/siRNA/ASO。**

**antagonmir 的给药剂量 = (50~200) nmol/只小鼠/次 xa 只小鼠 x b 次给药/只小鼠=x nmol **antagonmir NC 的给药剂量计算同 antagonmir。****

注：这个剂量计算是基于约 20g 体重的小鼠来计算的，大鼠或其他动物需要相应调整单次的给药剂量。

仅供参考具体给药计量周期依据你的实际实验来进行选择和调整，参考此计算方案结合实验本身的情况来计算出需要的剂量。

## 2：局部给药通用操作指导（以皮下瘤模型为例）

**局部给药：**适应模型：大脑、肌肉、皮肤、骨关节、眼睛、鼻腔、耳蜗、皮下瘤、膀胱、子宫腔，鞘内，皮肤（表皮、真皮和皮下组织）等局部此类疾病模型。

### 1) 注射体积和剂量（以miRNA agomir尾静脉注射小鼠为例）

注射体积 10 $\mu$ l~50 $\mu$ l，常用注射体积为 50 $\mu$ l；前期如果肿瘤体积较小，为了减少注射后出现反流，可选择减少注射体积。对于初次操作的人员，可以事先在建好的皮下瘤模型上注射灭菌 PBS 或者注射用生理盐水，作为注射操作的预实验。miRNA agomir(过表达)/化学修饰 siRNA/ASO 推荐给药剂量：每次注射 1~10nmol。miRNA antagonmir(沉默) 推荐给药剂量，每次注射 5~20nmol，建议可以剂量大一些。

### 2) 注射剂的配制：

以 5 nmol agomir 冻干粉一管为例，瞬时离心后直接加入 10ul-50ul 葡萄糖注射液或注射用生理盐水/灭



菌的 1xPBS 进行稀释。

例如实验组为 6 只小鼠，对照组 6 只小鼠为例，具体依据客户自身的实验情况来确定分组和每组的动物数量，以用量为 5nmol agomir / agmir NC/只小鼠为例。

注射时，以 5 nmol agomir /agmir NC 冻干粉一管为例，先瞬时离心，然后开盖每管 agomir / agmir NC 直接加入 10ul~50ul 注射用葡萄糖注射液/注射用生理盐水/灭菌的 1xPBS (依据不同时期肿瘤大小来进行灵活调整溶解体积)，枪头轻缓吹打，充分混匀稀释溶解 agomir / agmir NC。

然后将溶解后的 10~50ul 的 miRNA agomir 的灭菌 1xPBS/生理盐水溶液/葡萄糖注射液在瘤体内进行多点注射，可注射 3~4 处 (前期瘤体小，可以只单点或者 2 点注射)，一次性用完。

推荐每隔 3-4 天给药一次。如果需要时间拉长到一周给药一次，最好按照单次建议的给药剂量范围的大剂量进行给药为佳，条件允许的情况下更推荐每隔 3/4 天给药一次为佳，或每 2 周做一次连续 3 天注射。

注：miRNA agomir /antagonmir /化学修饰 siRNA/ ASO 由于涉及多种化学修饰，避免反复冻融。尽量按照单次/单次单只动物的给药剂量来进行分装。

### 3) 注射时间：

小鼠/裸鼠种植肿瘤细胞后，大约长至 5mm X 5mm 大小时即可以开始注射 miRNA agomir/antagonmir/化学修饰 siRNA/化学修饰 ASO (一般皮下瘤建模时间需要 1-2 周左右，具体将根据肿瘤细胞的生长速度而定)，每只小鼠/裸鼠每 3~4 天左右注射一次，肿瘤模型注射周期通常多为 2-4 周 (具体依据不同肿瘤类型，肿瘤生长速度，实验具体情况进行相应调整)。注射后每天测量并计算瘤体体积，绘制生长曲线。之后取肿瘤组织，进行切片染色、qPCR、WB 等实验检测抑制效果，检测相关关注的指标。(其他疾病模型需要依据模型，实验方案等来确定具体的给药周期)

针对急性模型 (作用时间小于一周)，建议单次大剂量注射；

针对慢性模型 (作用时间超过一周)，建议中低剂量多次给药，每隔 3-4 天注射一次加强效果。如果给药需要持续的时间 4 周以上，可以考虑大剂量每周给药一次，或者每 2 周做一次连续 3 天注射。

注：以上数据来源于大量科研工作者的实验结果，由于miRNA/mRNA/lncRNA/circRNA本身丰度差异大，作用的部位不一，目前动物实验的agomir/antagonmir/化学修饰siRNA/化学修饰ASO注射剂量无法建立统一标准，科研人员可根据我们的推荐剂量结合预实验的初步结果进行调整。

### 4) 剂量计算

**每一个目标agomir/antagonmir/siRNA/ASO的给药剂量计算如下：**

**agomir/siRNA/ASO 的给药剂量 = 1~10 nmol/只小鼠/次 x a 只小鼠 x b 次给药/只小鼠 x c 个给药部位/只小鼠= x nmol**

**agomir NC/siRNA NC/ASO NC 的给药剂量计算同 agomir/siRNA/ASO。**

**antagonmir 的给药剂量 = 5~20 nmol/只小鼠/次 x a 只小鼠 x b 次给药/只小鼠 x c 个给药部位/只小鼠= x nmol**

**antagonmir NC 的给药剂量计算同 antagonmir。**

注：这个剂量计算是基于约 20g 体重的小鼠来计算的，大鼠或其他动物需要相应调整单次的给药剂量。

仅供参考具体给药计量周期依据你的实际实验来进行选择和调整，参考此计算方案结合实验本身的情况来计算出需要的剂量。

**温馨提示：**如涉及到使用本公司产品发表文章请引用产品来源，QianMoBio Co. Ltd, shanghai, China，上海芊陌生物科技有限公司。对于引用注释本公司产品发表的 SCI paper，联系销售或者本公司，可获取对应的科研奖励金。