

Abstrakt

Vedlejší účinky siRNA byly testovány na buněčných liniích po „umlčení“ genu kódujícího cyklooxygenázu. Teoretickým základem tohoto experimentu byl poznatek, že siRNA mohou vyvolat imunitní odpověď. Z tohoto důvodu byla testována exprese IFN-indukovaných genů v intaktní Hep2 buněčné linii a ve třech liniích odvozených od Hep2 buněk, kde byla různými metodami vnesena siRNA.

Buněčné linie byly odvozeny z Hep2 pomocí různých metod transfekce siRNA (tj. nukleofekce, effectene technologie a klonování). RNA byla izolována z těchto buněčných linií a cDNA byla získána reverzní transkripcí.

Genová exprese byla měřena pomocí QRT PCR a kvantifikována jako počet kopií/mikrogram RNA. Stupeň exprese byl porovnáván s intaktní linií Hep2. Jako houskeeping gen byl použit NUP. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí softwarů REST verze 2 a rotoru Gene verze 6.

Mělo být testováno devět IFN-indukovaných genů, RNL, PKR, IRF1, IRF3, IFITM, IFIT1, OAS1, OAS2 a OAS3. Z nich OAS1 a OAS2 nebylo možné izolovat a tedy měřit. Exprese PKR byla up-regulovaná; exprese všech ostatních testovaných genů byly down-regulovány. Další rozsáhlé studie jsou nezbytné pro vysvětlení těchto výsledků.