

microRNA ワークショップ スケジュール

1 日目 細胞への *mirVana* miRNA mimics と *mirVana* miRNA inhibitors トランスフェクション

13:00 – 13:30	(講義)	microRNA の原理
13:30 – 14:00	(講義)	トランスフェクションの原理
14:00 – 14:30	(実習)	細胞への microRNA トランスフェクション(RNA-脂質複合体)
14:30 – 15:00	(講義)	トランスフェクショントラブルシューティング
15:00 – 15:20	(実習)	細胞への microRNA トランスフェクション(細胞への導入)
15:20 – 15:30		休憩
15:30 – 16:00	(講義)	エレクトロポレーションを用いた microRNA 導入紹介
16:00 – 16:30	(講義)	Neon エレクトロポレーションを用いた microRNA の導入
16:30 – 17:00		質疑応答

2 日目 Taqman MicroRNA assay による内在性 microRNA 発現解析

10:00 – 11:00	(講義)	microRNA 発現解析方法概要
11:00 – 11:30	(実習)	細胞からの total RNA 回収
11:30 – 12:00	(実習)	目的 microRNA の逆転写反応
12:00 – 13:00		昼食
13:00 – 13:30	(実習)	定量 PCR による microRNA 発現解析
13:30 – 14:30	(講義)	microRNA、anti-microRNA の確認、検索方法
14:30 – 15:00	(実習)	定量 PCR によるターゲット関連遺伝子の発現解析
15:00 – 15:10		休憩
15:10 – 15:40	(実習)	トランスフェクション効率の確認
15:40 – 16:00	(講義)	結果解説
16:00 – 16:30		質疑応答

3 日目 *miVana* miRNA mimics および *miVana* miRNA inhibitors 導入細胞のターゲットタンパク質発現解析

10:00 – 10:05	ガイダンス
10:05 – 10:35	(講義) タンパク質発現解析概要
10:35 – 12:00	(実習) 細胞からのタンパク質抽出および SDS-PAGE 開始
12:00 – 12:35	昼食
12:35 – 13:15	(実習) ブロットニング
13:15 – 14:15	(講義) 電気泳動、ブロットニング、検出の基本技術
14:15 – 14:30	(実習) メンブレンのブロッキング
14:30 – 15:00	(講義) ウェスタンブロットニングの至適化
15:00 – 15:10	(実習) 一次抗体反応
15:10 – 15:40	(実演) iBlot による高速ブロットニング実演
15:40 – 16:10	(講義) 検出法の応用、トラブルシューティング
16:10 – 16:25	(実習) 二次抗体の反応
16:25 – 16:55	(講義) データ評価方法
16:55 – 17:15	(実習) タンパク質の検出と比較
17:15 – 17:30	総括 及び 質疑応答