

## siRNA 使用说明

### 产品简介:

常规化学合成 siRNA 为 21-25nt 的双链小分子 RNA。即用型的 siRNA, 已经经过纯化、退火等处理, 只要用 DEPC 水溶解并配制成 20 $\mu$ M 液体即可直接转染细胞。产品剂型为冻干粉, 产品剂量经过严格测算, 以摩尔数标明。

### 保存和使用:

**保存:** 产品以冻干粉的形式, 常温运输, 常温下一两周内稳定。收到产品后, 请于-20 $^{\circ}$ C至-80 $^{\circ}$ C保存。

**液体剂型:** siRNA 的贮存浓度一般为 20 $\mu$ M, 应避免反复冻融避免反复冻融(尽量不要超过 5 次), 建议溶解后的产品分装保存分装保存分装保存, -20 $^{\circ}$ C~-80 $^{\circ}$ C保存半年以上。如果近期不做实验, 产品需长期放置, 最好以冻干粉形式保存。

**冻干粉剂型:** -20 $^{\circ}$ C~-80 $^{\circ}$ C保存一年以上。开盖前, 请先稍稍离心, 将粉末收集于管底, 再用 DEPC 水, 配制成 20 $\mu$ M 的液体剂型。

产品 nmol	0.5	1	2	5	10	20
溶解量 ( $\mu$ l)	25	50	100	250	500	1000

**使用:** 产品使用时, siRNA 最好冰上放置, 使用完毕后, 请于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C小心保存;整个实验过程, 要求无 RNA 酶环境, 与产品接触的枪头、EP 管等都应该经过无酶处理;

**特别提示:** 荧光标记 siRNA 要求避光。若用 FAM 等绿色荧光对照, 请注意 Lipofectamine RNAiMAX 对绿色荧光有一定的遮盖效应, 对红色荧光对照没有影响。

### 转染方法 (仅供参考):

1. siRNA 的转染浓度: 推荐的转染浓度是 50nM, 可具体情况优化转染浓度, 最佳转染浓度一般设置浓度梯度和时间曲线进行测试, 建议优化的转染梯度为 100nM, 50nM, 20nM, 10nM, 5nM, 1nM。

2. 使用 RNAiMAX Transfection Reagent (Invitrogen)转染 siRNA 的步骤:

转染方法请参考转染试剂的使用说明, 以下是使用 RNAiMAX Transfection Reagent (以下称 RNAiMAX) 转染的参考方法。

(1) 转染前一天, 接种适当数量的细胞至细胞培养板中, 使转染时的细胞密度能够达到 30~50%(不同细胞生长速度不一样, 因此, 接种细胞的数量需要根据细胞培养的经验), 请使用无抗生素的培养基。

注意: 转染时, 细胞密度是影响转染效率的关键因素之一, 细胞生长过度会削弱细胞活力, 从而降低细胞的转染效率。而细胞密度过低则可能达不到生长的要求, 也会因此影响转染效率。

(2) 对于每个转染样品, 按如下步骤准备 siRNA-RNAiMAX 混合液:

a. 稀释转染试剂 RNAiMAX: 使用前, 将 RNAiMAX 转染试剂轻轻摇匀, 然后取适量, 用不含血清的优化培养基(Opti-MEM I Reduced Serum Medium)稀释, 轻轻混和, 室温孵育 5min;

b. 稀释 siRNA: 用 Opti-MEM I Reduced Serum Medium 稀释 siRNA, 轻轻混和;

c. 稀释好的 RNAiMAX 经过 5min 的孵育后, 与上述(b)稀释好的 siRNA 轻轻混和, 室温培养 20min 以形成 siRNA-RNAiMAX 混和物, 溶液可能会有浑浊, 不过不会影响转染。

注意: 稀释好的 RNAiMAX, 如果长时间放置可能导致转染试剂活性的降低, 应尽量在尽量在 30min 之内之内与稀释好的 siRNA 混和。

(3) 将 siRNA-RNAiMAX 混合液加入含有细胞以及培养液的细胞培养板中, 轻轻摇晃, 使之混和;

(4) 将培养板置于 37 °C 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养至检测时间(24~96h)。沉默效率的检测一般建议的时间为 24~72h。