

# siRNA 使用说明



## 一、siRNA 产品说明

1. **目的 siRNA:** 用于干扰特定基因表达的 siRNA，通常命名格式为“基因名-物种-序列编号”，例如 GAPDH-homo-371，表示针对人类 GAPDH 基因的第 371 位点的 siRNA。
2. **NC (阴性对照):** 一段无意义序列，用于对照实验，赠送的通用序列对照与哺乳动物基因无同源性。
3. **DEPC 水:** 经 DEPC 处理并高温高压去 DEPC 的无菌无酶水，用于溶解 RNA oligo，保护 RNA 不被快速降解。
4. **阳性对照 GAPDH:** 针对管家基因 GAPDH 的 siRNA，用于检测实验操作步骤和细胞转染效率。正常情况下，GAPDH 的表达量应降低 70% 以上。
5. **FAM-NC:** 带荧光的 NC 片段，用于确定转染效率和摸索转染条件

## 二、保存

- 收到的 siRNA 干粉应直接在 -20℃ 下冻存，使用前再溶解，干粉一般可以保存 3-6 个月。
- 溶解后的 siRNA 应分装并避免反复冻融，建议 3 个月内用完。

## 三、溶解

1. **溶解前准备:** 确保使用哪个 siRNA，仅溶解哪个，避免全部溶解。
2. **离心:** 溶解前先离心，将 siRNA 干粉集中到管底。
3. **加 DEPC 水溶解:** 根据 siRNA 的 OD 值和长度，加入适量的 DEPC 水以达到所需浓度。
4. **分装与保存:** 溶解后立即分装，标记并冻存于 -80 或 -20℃，避免 4℃ 保存。

## 四、细胞转染

1. **转染剂量:** siRNA 的工作浓度一般为 20-150nmol/L，具体用量需根据转染试剂说明书优化。
2. **操作流程:** 确保细胞状态良好，密度适中，转染时小心均匀滴加转染复合物。
3. **血清使用:** 配置 siRNA 和转染试剂时使用无血清培养基，转染后根据情况决定是否换液。

## 五、siRNA 无效原因解析

1. **转染效率:** 使用 FAM-NC 确定最佳转染条件，一般细胞转染效率达需要达到 70% 以上。
2. **检测时间点:** 转染后 24-72 小时内检测基因和蛋白水平变化。
3. **引物设计:** RT-PCR 引物应设计在 target 位置的两侧。

4. RNA 降解：妥善保存，避免反复冻融。
5. 干扰靶点：如效果不佳，建议更换 siRNA 位点。
6. 基因特性：对于表达量低或功能特殊的基因，考虑其他技术如 CRISPR 或 ASO。

#### 联系信息

技术支持	刘老师	电话/微信 17671619383	support@jtsbio.com
------	-----	----------------------	--------------------

- 如有疑问，可联系技术支持获取帮助。

以上说明仅供参考，具体实验操作请遵循实验室标准操作流程和产品说明书。