



荧光标记的siRNA使用说明

一、荧光标记的siRNA

转染效率的高低可以通过观察荧光标记(FAM、CY3、CY5)的siRNA转染细胞后的荧光强度实现。荧光标记的siRNA转染细胞后,可以用荧光显微镜、激光共聚焦显微镜、流式细胞仪等检测,确定是否有效转染和优化转染条件。荧光标记的siRNA还可用作siRNA胞内定位及双标记实验(配合标记抗体)来追踪转染过程中导入了siRNA的细胞,将转染与靶蛋白表达的下调结合起来。

二、使用荧光标记的siRNA检测转染效率

荧光标记的siRNA的溶解及保存

- 1.由于OligoRNA是很轻的干膜状附在管壁上,打开时极易散失,所以打开离心管前先离心,10000 rpm,2 min然后再慢慢打开管盖,溶解时加适量DEPC水后盖上管盖,振荡溶解。
- 2.需要浓度20 μ M的样品,如何计算重悬siRNA缓冲液的量?
1 OD的siRNA,想溶解为20 μ M的样品,应该使用125 μ l附送的DEPC水去重悬1 OD的siRNA,溶解后为20 μ M的样品。
- 3.贮存和稳定性:-20 $^{\circ}$ C,避光保存,冻干粉或液体。液体(贮存浓度为20 μ M)避免反复冻融, GenePharma保证在上述条件下siRNA oligo的稳定性可达到6个月。

转染

- 1.使用lipo fectamin2000转染的步骤(以贴壁细胞为例,仅供参考)
 - a.以24孔培养板操作为例(其他孔板各种的试剂用量,请参照“Lipofectamine2000 manual”),转染前一天,将0.5-2 \times 10⁵个细胞接种于培养板中,每孔中加入约500 μ l含血清的完全培养基,使转染时的细胞密度能够达到70%;
 - b.取1 μ l/孔Lipo fectamine2000(使用前轻轻摇匀),用50 μ l Opti-MEM I Reduced Serum Medium稀释。轻轻混和后在室温孵育5 min ;
 - c.取2 μ l FAM-siRNA,用50 μ l Opti-MEM I Reduced Serum Medium稀释,轻轻混和均匀;
 - d.稀释的Lipofectamine2000(步骤b)经过5min的孵育后,与稀释FAM-siRNA(步骤c)轻轻混和,室温静置20min,以形成荧光-siRNA-转染试剂混和物,如果溶液出现浑浊,属于正常现象,不会影响转染效果。

注意:稀释的Lipo fectamine2000尽量在25min之内和稀释的荧光-siRNA混和,如果放置时间过长,可能导致转染试剂活性的降低;

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195

E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828

E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>





吉玛基因
www.genepharma.com

GenePharma

g0 /ukTPC/ *f+ * 622 n+

h0 59 E24 6/8

* ;

i0 8 .

1. ! g] FB5 g] FB5

40 ! g] FB5 / `] dc! g] FB5

50

60 Nkrqhgevc o kpg"4222 6/8

ukTPC 8 fl

七

如有疑问欢迎垂询

上海电话: 021-51320195 E-mail: support@genepharma.com

苏州电话: 0512-86668828 E-mail: szsupport@genepharma.com

<http://www.genepharma.com>