

siRNA oligos 产品使用说明

常规化学合成 siRNA

产品内容	产品规格	储存条件
目的基因 siRNA	2 OD (5 nmol)×3	-20~-80°C 保存 12 个月
阴性对照	1 OD (2.5 nmol)	
FAM 标记阴性对照	1 OD (2.5 nmol)	
阳性对照	1 OD (2.5 nmol)	
DEPC 水		

■ 产品概述

常规化学合成 siRNA 为 21~23nt 的双链小分子 RNA，产品为冻干粉形式。

■ 运输保存

产品以冻干粉的形式常温运输。收到产品后，请于-20°C~-80°C 保存，冻干粉可以稳定保存一年。使用前瞬时离心，用 RNase-free H₂O 配制成 20 μM 储存液，分装保存，避免反复冻融。

表 1. 20 μM 储存液的配置方法

siRNA(nmol)	2.5	5	10	50
溶解体积(μL)	125	250	500	2500

注：1OD duplex=2.5 nmols=40 μg

■ 注意事项

1. siRNA 呈很轻的干膜状附在管壁上，打开管子前先离心，然后再慢慢打开管盖，溶解时参考表 1 添加 RNase-free H₂O 后盖上管盖，震荡溶解。
2. 由于 RNA 容易降解，为避免外界因素（包括酶，极端 pH 或者温度条件等）导致产品降解，所有操作请严格遵循 RNA 操作规则，使用的管子、枪头需要无酶无菌处理。实验过程中，产品最好于冰上放置，使用完毕后请于-20°C~-80°C 小心保存，避免反复冻融。
3. 配制成 20 μM 储存液，请按实验设计需要进行分装，分装后 3 个月内用完（时间越久，降解越严重，可能会导致实验重复性不好）。

细胞实验方法

■ 细胞实验材料

- EndoFectin™ RNAi 转染试剂或其他同等性能的转染试剂、siRNA
- 无蛋白细胞培养液（如 Opti-MEM I™，来自 Life Technologies. 货号：31985-088）
- 培养至 50%汇合度的目的细胞

■ 条件摸索

在进行正式转染前，推荐摸索目的细胞的最佳转染条件，若您购买了 EndoFectin™ RNAi 转染试剂，可参考表 2（RNAi 转染）的设置进行多个梯度的初步摸索。

表 2. siRNA 转染贴壁细胞的建议初始条件

培养耗材	培养基 (μl)	siRNA 用量 范围(pmol)	siRNA 终浓 度(nM)	20 μM siRNA 用量(μl)	稀释体积 siRNA or RNAi 转染试剂	推荐用量 RNAi 转染试剂	RNAi 转染试剂适用范围
96-well plate (one well)	100	8	80	0.4	5 μL	0.4 μL	0.2-0.8 μL
	100	4	40	0.2	5 μL	0.4 μL	0.2-0.8 μL
	100	2	20	0.1	5 μL	0.4 μL	0.2-0.8 μL
	100	1	10	0.05	5 μL	0.4 μL	0.2-0.8 μL
	100	0.5	5	0.025	5 μL	0.4 μL	0.2-0.8 μL
24-well plate (one well)	500	40	80	2	25 μL	2 μL	1-4 μL
	500	20	40	1	25 μL	2 μL	1-4 μL
	500	10	20	0.5	25 μL	2 μL	1-4 μL
	500	5	10	0.25	25 μL	2 μL	1-4 μL
	500	2.5	5	0.125	25 μL	2 μL	1-4 μL
12-well plate (one well)	1000	80	80	4	50 μL	4 μL	2-8 μL
	1000	40	40	2	50 μL	4 μL	2-8 μL
	1000	20	20	1	50 μL	4 μL	2-8 μL
	1000	10	10	0.5	50 μL	4 μL	2-8 μL
	1000	5	5	0.25	50 μL	4 μL	2-8 μL
6-well plate (one well)	2000	200	100	10	125 μL	10 μL	5-20 μL
	2000	100	50	5	125 μL	10 μL	5-20 μL
	2000	50	25	2.5	125 μL	10 μL	5-20 μL
	2000	25	12.5	1.25	125 μL	10 μL	5-20 μL
	2000	12.5	6.25	0.625	125 μL	10 μL	5-20 μL

■ siRNA 转染方法

1. 目的细胞铺板培养：

转染前一天用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度，铺板培养；第二天进行转染操作时，一般细胞的最佳汇合度是 50%（对部分接触抑制敏感的细胞，可适当降低铺板密度，使转染时的细胞汇合度降低）。

注意：该步骤若使用含抗生素的细胞培养液，转染前 0.5 小时请更换为预热的不含抗生素的细胞培养基。

2. 制作 siRNA-EndoFectin™ 复合物：

A. 从冰箱取出 20μM siRNA 母液、EndoFectin™ RNAi 转染试剂、无蛋白培养液（如 Opti-MEM I™）静置，使其温度恢复至室温。参考表 2，以无蛋白培养液分别稀释 siRNA、稀释 EndoFectin™ RNAi 转染试剂，室温静置 5 分钟。（稀释后的 siRNA 和 EndoFectin™ RNAi 转染试剂溶液体积比为 1:1）

（举例：如需使用 6 孔板进行 siRNA 转染，转染 1 个培养孔，从 20μM siRNA 母液中吸取 1.25μL siRNA，稀释至 125 μL（即最后添加至 6 孔板中的终浓度约为 12.5nM），室温静置 5 分钟；取 10 μL EndoFectin™ RNAi 转染试剂稀释至 125 μL，室温静置 5 分钟。

B. 5 分钟后，轻柔地将稀释的 siRNA 混匀于稀释的 EndoFectin™ RNAi 转染试剂（注意：EndoFectin™ RNAi 试剂在进行稀释后，需在 30 分钟内与 siRNA 稀释液混匀）。室温静置 15-20 分钟，使 EndoFectin™ 复合物充分形成。

3. 转染目的细胞:

向培养板孔/培养皿中逐滴添加 EndoFectin™ 复合物, 在滴加过程中轻柔晃动培养板/培养皿, 使转染试剂均匀扩散。应避免将转染试剂重复滴加在同一位置 (易使局部转染试剂浓度过高)。

4. 孵育细胞并检测分析:

在 5% CO₂ 培养箱中以 37°C 孵育细胞, 24-72 小时后即可进行分析检测。由于不同目的基因和目的细胞之间存在差异, 可自行摸索并确定最适合的检测时间。

■ 产品引用

如在文献中使用该产品, 请采用描述: siRNA Oligos (datasheet 的货号; GeneCopoeia, Inc., Rockville, MD)。

有限使用许可和保证

有限保证

GeneCopoeia 保证该产品 (siRNA oligos) 符合产品手册上的说明。如果证明该产品与产品说明信息不符, 购买方须将该产品在 5 个工作日内返回给 GeneCopoeia, 而 GeneCopoeia 将免费替换该产品。如果不能提供替换产品, GeneCopoeia 将退款或 credit 给购买方。此保证仅限于产品的原始购买者, 且不得延伸至原始购买者以外的使用者。GeneCopoeia 的责任仅限于替换, 退款或 credit (指选择不退款, 剩余款项用于后续购买产品的支付) 该产品, 且退款或 credit 只限于实际的购买价格但不包括寄送费用。GeneCopoeia 不对任何由于使用或不正确使用本公司产品造成的直接、间接的、衍生的或偶然的损失所产生的后果负责。GeneCopoeia 提供此唯一保证。GeneCopoeia 对于产品的适销性以及任何特定使用用途不再提供任何其他保证。

有限使用许可

购买方需同意接受以下有限使用许可条款。GeneCopoeia 的产品仅限于购买方内部研究使用, 不可以任何方式转让给第三方; 不可用于包括人类或诊断及治疗在内的其他用途。未经 GeneCopoeia 的书面批准, 不得对此产品进行更改、重新包装、转售或用于制作商业化产品。此产品须按 NIH 指南用于 DNA 重组和基因研究。对此产品任何使用都构成对以上条款的承诺和接受。

GeneCopoeia 致力于为我们的客户提供高质量的产品。如果您对我们的产品有任何问题和担忧, 请与我们联系: 020-28069233。

siRNA-011625

该产品仅限于实验科学研究用, 若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途, 本公司概不承担任何责任。