



RNAi 实验之前：严防死守 RNase

虽说有的 RNAi 实验过程可以不涉及 RNA，比如用载体表达 shRNA，可是涉及 RNA 合成，后继的 RNA 纯化和定量 RT-PCR，还是和其他涉及 RNA 的实验一样要求严格避免 RNase 污染。痕量的 RNase 就可以严重破坏实验结果，不可不防——

实验用到的试剂和耗材如指管和移液枪头都要求是无 RNase 污染的，或者 DEPC 处理过的（注意含 Tris 的溶液不能直接用 0.1%DEPC 处理，详见 Tips）。戴手套，不小心接触各种表面后，比如桌面啊，冰箱把手啊，门啊什么的，要勤换手套。

生物通 eBioTips 3: DEPC (Diethyl pyrocarbonate) 是强 RNase 抑制剂。0.1%DEPC 处理溶液或者器皿表面，可以通过共价修饰使 RNase 失活。DEPC 按照 0.1: 100 的比例加入试剂中，37 度保温 12 小时，高温消毒 15 分钟可以除去 DEPC 残留，最后得到 DEPC 处理过的溶液，这个浓度对于一般的实验室内去 RNase 污染处理已经足够，对于 RNase 特别高的溶液则可能需要提高 DEPC 处理浓度。但是 DEPC 会和 Tris 的氨基反应而降解，失去灭活 RNase 的能力，所以不能用 0.1% DEPC 直接处理含有 Tris 的溶液。通常可以改用 DEPC 处理过的水来配置 Tris 溶液。已经配好的含 Tris 的溶液，可以用 1% 的 DEPC 处理以灭活 RNase。不过过高的 DEPC 残留可能会影响后继实验。

生物通 eBioTips 4: 溶液残留的痕量 DEPC 会通过羧甲基化修饰 RNA 嘌呤基团，羧甲基化修饰 RNA 在无细胞体系中翻译效率非常低。不过除非大量的嘌呤基团被修饰，通常这种羧甲基化修饰 RNA 和 DNA 或者 RNA 之间的杂交性不受明显影响。所以，对于 0.1%

的 DEPC，一定要 100 度加热处理 15 分钟以上去除溶液中的 DEPC，再进行 RNA 相关实验。

DEPC 产品价格: Sigma 原装 DEPC 是 100ml 的，价格 2700 上下，胜在 Sigma 的金字招牌。市面上有不少分装 Sigma 的小包装 DEPC，虽然价格便宜和国产一样，5ml 价格都在 150-300 元之间。但是很多人还是会心存疑虑，无从得知是否真的进口分装，此前我们见过有试剂公司被投诉用国产试剂冒充进口分装试剂的案例。

DEPC 溶液主要用于处理容器和溶液中的 RNase，对于工作台，加样器等较大面积的表面处理，一些去除环境中 RNA 酶污染的辅助产品更加适合，虽然不是必需的，可要帮助实验室严防死守 RNase，还是挺好用的。RNA 干扰属于探索性的研究，万一得不到预期的结果，到底是由于环境污染破坏还是由于实验设计上的问题，分析起来可就麻烦了，因小失大，耽误文章发表，甚至丢掉唾手可得的成果，岂不冤哉？

Ambion 公司的 RNaseZap 和 RNaseZap

Wipes: 一种含有 3 种有效成分的溶液，接触表面同时就能立即灭活 RNase，对于不适宜烘干或者消毒的表面处理，比如工作台桌面，加样枪表面，或者其他玻璃表面、塑料表面，非常方便，喷一喷，擦一擦，轻轻松松除 RNase。RNaseZap 还可以用来处理指管表面，去除



RNAse 污染的同时也不会残留影响酶切反应的残基。RNaseZap 有多贵? 250ml 要 825 (不能稀释的), 4 升 7722 人民币 (2007 年公开报价)。Wipes 就类似浸透 RNaseZap 的湿巾, 一筒 100 张, 报价 908。每次揪一张出来, 直接擦拭表面就行, 特方便, 特适合工作台, 加样枪, 手套, 门把手, 电泳槽什么的。3 筒补充装要 2063。用一次要 6 块多到 9 块钱, 不过与其出了问题花更多的试剂和精力去重复劳动来弥补漏洞, 还不如一开始花费少点来预防。

生物通 eBioTips 5: 如何维持实验室无 RNase 污染?

- 经常定期处理各种表面, 防止 RNase 污染。
- 实验全程戴手套, 一旦手套触及其他
- 表面立即更换。
- 加样枪专用,
- 选择无 RNase 污染的指管枪头和试剂
- 减少 RNA 实验区通风或者空气流动。

Get Started with RNAi

Silencer® siRNA Starter Kit

- The perfect choice for those new to siRNA experiments
- Includes transfection agent, siRNAs, and three different systems for assessing knockdown
- For use with human, mouse, and rat cells

Just starting siRNA experiments in human, mouse, or rat cells? The *Silencer*® siRNA Starter Kit is perfect for researchers new to RNAi. It provides all of the reagents, protocols, and instructions necessary to help you get underway with siRNA transfection and to ensure that your gene knockdown experiments are successful. The *Silencer* siRNA Starter Kit joins Ambion's suite of products for RNAi research, including guaranteed to silence siRNAs, siRNA delivery agents, and much more.



Gene Company Limited
基因有限公司

A Gene Group Company

基因公司携手Ambion助您
完成RNA干扰实验

Ambion®

THE RNA COMPANY®



香港: 852-28966283
广州: 020-85524840
武汉: 027-87166462
济南: 0531-86560825
西安: 029-82501170

北京: 010-51665161
天津: 022-88293136
昆明: 0871-5199992
南京: 025-83248693
杭州: 0571-87229824

上海: 021-64951899
成都: 028-85254936
沈阳: 024-23341315
长沙: 0731-4476562
重庆: 023-68614842