



足够做 50-100 次转染。异曲同工之妙，就妙在除了提供 siRNA 对应的 RT-PCR Primer(货号以 PR 结尾) 作为 mRNA 检测(用 SYBR Green 荧光定量法检测)，Santa Cruz 公司同时提供对应目标蛋白的自家抗体，你可以顺便购买相应的抗体(不用自己费心去找合适的抗体)，以便做完 siRNA 实验后检测目标蛋白沉默的效果。

2. 强大高效的 siRNA 文库

独立的 siRNAs 可用于研究单个基因的功能，可后基因组时代的今天，研究人员已经不满足于一次“缺失”一个基因这样的研究节奏，功能基因组学更需要能站在全局高度研究多个基因之间关系的工具，siRNAs 文库应运而生。如果说基因芯片可以全局高通量地研究缺失某个基因对整个基因组表达产生的影响，那么 siRNAs 文库则便于同时研究多个基因分别缺失时细胞的变化，从而进行大规模筛选研究基因和功能的关系。

Silencer® CellReady™ siRNA Libraries

可以说是 RNAi 芯片的雏形----我们在这里可以看到，源自高通量的矩阵芯片概念和 RNA 干扰结合，使得 RNA 干扰不再局限于一次一个基因样本沉默的实验，而可以象芯片一样，一次同时进行多基因高通量大规模批量筛选，从而得以站在全局的高度研究不同的基因沉默之间的相互关系！人类基因中特定的某些组，分装在 96 孔板的 siRNA 库，形成类似“矩阵”的组合，每孔 3pmol，可供一次直接转染使用，终浓度 30nmol (Ambion 公司 siRNA 保证有效作用浓度)。同样严谨的，每个基因对应 3 个不同的 siRNA，分别在 3 块 96 孔板的同一位置上以便相互参照平衡。每板留有 8 个空白孔和 8 个对照孔，用户可以选择多至 4

个 Ambion 的对照 siRNA (2x4)，空白孔留给你做无转染的空白对照或者不加 siRNA 的负对照。配合高效快速的反向转染技术----先用培养基稀释 siRNAs 于 96 孔版，批量加入用培养基稀释的转染试剂于 96 孔板中，温育形成转染复合物，再批量加入胰酶消化收获的细胞于 96 孔板中铺板，直接培养 24--48 小时即可检测。这种技术已经在 06 年在 Nature 上有发文章，可以参考生物通相关新闻。多么富有想象力的创新之作！在后基因组时代的今天，在这个全球研究人员不断加速研究各种基因功能以抢夺明日专利的时候，这个雏形的 RNAi 芯片，再次为我们的研究提速，提速。真的是只怕想不到，不怕做不到。生物通还会在后继的文章中详细介绍这种新技术。

更惊人之作来自赛默飞世尔旗下的 **Dharmacon** 公司。去年业界最大的一宗并购案是热电(Thermo Electric)和飞世尔(Fisher)合并为赛默飞世尔----当今业界最大的公司。旗下 Dharmacon 公司不愧是 RNAi 试剂市场上的领头羊之一，率先推出世界上第一个全基因组 siRNA 文库，靶向基因包含整个人类基因组共计接近 22000 条基因！毫无疑问，全基因组 siRNA 文库将大大加速药物的研发并增加科学家对疾病的机理了解。96 孔板提供，一次实验就可以分析上百条基因，实现真正意义上的高通量检测。而且保证靶基因沉默效果 75% 以上！今年 4 月发表于 Nature 的一篇文章表明，应用这个全基因组 siARRAY®文库中的 SMARTpool siRNA 文库研究一种肺癌细胞，发现分别沉默其中 87 个基因后可使肺癌细胞对紫杉醇药物敏感性提高 10000 倍！也就是说这 87 个基因中的某一个或者某一组将有可能与肺癌细胞耐受紫杉醇有关，又或者说针对这组基因中的某一个或者某几个的 siRNA 有可



能成为提高肺癌紫杉醇治疗方案的辅助药物。多么令人鼓舞的结果!对于制药业来说可能提供另一种全新的思路---在开发一种新药如此困难和高成本的今天,如果能找到短期提高药物敏感性成千上万倍的 siRNA 作为原有药物的辅助治疗手段,不也是一种有效的方法吗!如果不是 siRNA 文库的出现,要得到这样的成果需要花费多少时间和代价,简直难以估计。诚如文章作者怀特博士所说,这种 siRNA 必将大大加速药物的研发过程,并增进科学家对疾病的机理了解。这种新一代技术研究工具之强大,实在令人惊叹。

人类全基因组 siRNA 文库筛选虽然效率惊人,但也是相当奢侈的,好在除了人类全基因组 siRNA 文库, Dharmacon 还提供细分为不同信号通路或者基因家族共计 30 多种 siRNA 子文库,供不同的研究方向使用。此外 Dharmacon 公司还提供小鼠全基因组共计 16500 多个基因的 siRNA 文库和不同信号通路或基因家族的子文库。以 4 条 siRNA 混合的 SMARTpool 形式和单独 4 条 siRNA 的 Upgrade 或者 set of 4 这两种形式。

Dharmacon 最新提供 RTF 形式的文库,就是反向转染 Reverse Transfection Format---和 Ambion 设计一样, siRNA pool 混合试剂预先铺板在 96 孔培养板上,只要先加入培养基和转染试剂的混合物,温育形成转染复合物,然后再直接铺细胞培养。比传统转染方法节约一天的时间,对于 22000 多个基因如此庞大的容量, RTF 形式确实能减少很多工作量。另外对应每一种文库, Dharmacon 还有独特的 ON-TARGET 技术修饰的 siRNA 文库---研究表明 siRNA 中真正有效的是与 mRNA 互补的反义链,然而 siRNA 进入体内后,正义链和反义链都同样可以和 RISC 复合物结合进入 RNAi 信号通路从而影响基因沉默效果,正义

链还会增加脱靶反应的可能,经过 ON-TARGET 技术修饰的 siRNA 有效避免正义链与 RISC 结合,增强基因沉默特异性并最大程度降低脱靶效应。

生物通 ebiotips7: 对于超大型的文库,推荐首先选择 pool 混合 siRNA 形式进行初筛,一则能减少一半以上的工作强度,二则以混合 siRNA pool 的形式能确保有效基因沉默,减轻数据处理的工作量,更无需花精力来分析无效 siRNA 数据。但有资料表明,用 Pool 混合 siRNA 的形式做 RNAi 实验潜在有引起非特异抗病毒反应的可能,因此,初筛找到潜在目标后应该再单独购买独立的 siRNA 再进行平行验证实验(细筛),即可分析到底哪个 siRNA 有效,是否有脱靶反应等等,这样不单可以节约费用和实验操作、数据分析的精力,也同样能确保实验严谨。但是对于单个基因,我们还是更推荐单个 siRNA 平行进行实验,而非 pool 的形式。

生物通 ebiotips8: 对于大型 siRNA 文库,优先选择 RTF 形式的文库。相比传统的转染方法---可以节约 1 天的培养时间,也节省稀释 siRNA、加入转染试剂预混合温育,再转移到培养板上等移液步骤,节约不少手工操作和试剂,降低 RNase 污染,特别适合高通量大规模的 RNAi 实验。实验结果表明,反向转染得到的 RNAi 结果与传统方法结果一致,而且需要的转染试剂和 siRNA 的量更少,更节约。

现在几乎每个有提供 siRNA 销售的厂家都有提供包括人类全基因组、潜在药物靶基因、癌症、激酶,凋亡、GPCR,蛋白酶,核受体,离子通道的 siRNA 文库,也可以定制由客户指定的基因群的 siRNA 文库。这些成套定制的 siRNA 文库便于研究人员批量研究



不同基因功能缺失(loss-of-function)对细胞和其他基因的影响。每个厂家的产品大多围绕人类、小鼠、大鼠的基因组，药物靶基因、信号通路来设计，用户可以参考库容量(基因数目)和具体组成、每个基因 siRNA 数目，siRNA 量，以及对照的情况，当然还有价格来进行选择。Ambion 公司 **Silencer® siRNA Libraries**、Sigma 公司 Mission siRNA Libraries，Qiagen 的 siRNA Sets，Dharmacon 公司，韩国 Bioneer

的 AccuTarget Libraries 等都有类似的产品可供选择。详细信息可以到以上各公司网站查询。生物通小编本来做了一个针对各公司同类文库的库容量、siRNA 供应量、工作浓度、每基因 siRNA 数目、对照情况、操作性和价格等数据的比较，可是做着做着发现内容相当庞大，并且难以罗列具体的基因列表，加上随着研究的不断推进，这些 siRNA 文库也会不断升级，我们只好暂时放弃平行比较了。

Silencer® siRNA Libraries for RNAi Screening Projects Large and Small

- Human Genome
- Druggable Genome
- Kinase
- Transferase & Related
- GPCR
- Protease
- Transporter
- Receptor and Related
- Phosphatase
- Ion Channel
- Molecular Motor
- Neurotransmitter

And More...

Speed up functional analyses of important gene classes with libraries of highly effective siRNAs.

Ambion uses optimized design, extensive functional testing, state-of-the-art equipment, and rigorous quality control to produce our premium quality siRNA libraries, so you get results you can trust.

- **Effective** — siRNAs designed for maximum potency and specificity
- **Convenient** — Ready to use and plated to your specifications
- **Economical** — Cost effective solutions for RNAi screening
- **Customizable** — Custom aliquotting and custom libraries available



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

