5 siRNA 专用转染试剂

5.1. 如何将 siRNAs 递送至哺乳动物细胞中？

将 siRNA 完整高效地传递到特定细胞内，是 RNAi 实验的第二个关键要素。转染效率低和细胞活性低往往是基因沉默实验失败的常见原因。虽然 siRNA 比质粒 DNA 更容易转，不过依然需要优化转染条件，否则，一个有效的 siRNA 就可能因为转染效率不高而得不到理想的结果。一旦一种细胞株建立了标准方法，以后就容易得到可重复的结果。

由于没有抗生素筛选压力，siRNA 转染本身很难保证 100%的细胞被成功转染----实际上除了荧光标记的 siRNA 参照，并无法区分已经转染的细胞和未转染的细胞。而混迹其中的未转染细胞内由于没有发生 RNAi 反应，因而目标基因的表达不会下调，在后继的 RNA 纯化和荧光定量检测中就很可能会干扰结果----生物通编者为此特地请教过 Qiagen 新加坡的技术专家，他们也认为除去以荧光标记对照评估转染效率，目前也没有很好的方法。用 18s 来平衡检测结果可以减少因细胞数目变化而对结果产生的影响，却也不能区别出未转染细胞。siRNA 和带报告基因的质粒共转染虽然可行，但是过多的外源干涉可能会增加结果分析的复杂性。因此通过实验优化条件找到转染效率高的转染试剂，建立对某种细胞株的标准转染方法，对 RNAi 实验来说格外重要。

目前较常用的 siRNA 转染方法有 2 种：脂质体类转染试剂和电转染。随 RNAi 热遍全球，各厂家纷纷推出了各种 siRNA 转染试剂，绝大多数的贴壁细胞都可以用适当的转染试剂转染，生物通小编随后会逐一介绍比较。并非所有细胞都可以用脂质体转染试剂成功转染的。对于部分特别难转染的细胞株，悬浮细胞，原代细胞来说，当转染试剂不管用时，电转染是行之有效的另一个选择。我们前面提及 RNAi 实验不需要特殊的仪器，但是如果有适当的仪器，比如电转移仪，实验会更方便。我们平时使用的 DNA 转染试剂是否可用于 siRNA 转染？不是不可以，只是效果不是最佳，所以还是建议选择专用的 siRNA 转染试剂。

脂质体转染也可分为 2 种方法，一种是常规的转染方法：细胞铺板后等第二天长到 50％－80％之间（不同的转染试剂有不同要求，生物通小编个人经验是转染试剂细胞毒性高的要求长满一些，细胞多一些，就算死伤惨重也还能留下多些活口，嘿嘿，对于质粒转染来说这并非评判转染试剂好坏的标准，毕竟只要转进去就算 OK 了，但是对于 RNAi 实验来说就不同了），将 siRNA 和转染试剂混合物加入共同温育一段时间，更换培养基，再培养 24－48 小时检测 mRNA 含量等等。

创新的方法是**反向转染**。这种方法称为 **reverse transfection** 或者 **neofection**，和传统转染方法相比区别在于，传统方法需要提前一天接种铺板，培养 24 小时后等细胞到一定汇合度再加转染复合物转染；而反向转染则是不用预先接种细胞，先加入转染试剂和 siRNA 混合物在培养板上共同温育，然后再加入细胞铺板，培养。这个方法的好处不单是可以节约一整天的时间，而且转染效率高。原因可能是由于细胞尚未贴壁时接触转染试剂 siRNA 复合物的表面积更大，使得转染效率更高。大量的细胞株实验表明，其他条件相同的情况下，反向转染得到的 RNA 干扰效果比传统转染方法更好，连一些难以转染的细胞株如 HepG2 细胞也能得到非常好的 RNAi 结果。在反向转染实验中，细胞的密度不再困扰实验人员，有

实验表明，收获细胞时细胞密度对 RNAi 结果没有明显的影响，而胰酶处理收获细胞后，让悬浮的细胞和转染复合物混合后再铺板培养，既比传统方法节约了一天培养时间，也不用考虑细胞密度这个问题。

反向转染的概念适合高通量转染的需求，使得转染不再停留在手工操作上。在实际的高通量操作，为方便操作，流程也可改为先加稀释的 siRNA，再加稀释的转染试剂，温育一定时间后加细胞。

Qiagen 还提出了“Fast Foward”快速正向转染的方法，即在传统方法接种铺板后，无需等待一天，立即配置转染复合物，然后加入转染复合物温育。不过生物通小编个人觉得这 2 种方法差别无非是先加细胞还是先加转染复合物的问题，并且，先加转染试剂再加细胞，还可以减少温度反复变化对细胞生长的影响，我个人觉得更优一些。

5.2. 应该选哪种 siRNA 转染试剂？

我们都想找一个好用的转染试剂，什么才算是好的转染试剂？应该如何选择呢？为什么别人说好用，我用效果却不怎么好呢？这也是生物通编者在上次生物通技术专题之转染篇发表之后常常遇到读者提出的问题。应该说每种转染试剂都有自己所长，对不同的细胞都会有不同的转染效果。并且，对 RNAi 实验来说，光有好的转染试剂还不够，还需要优化转染条件以达到 siRNA 基因沉默的最佳效果，适当的转染试剂和优化转染条件都是很重要的。生物通在这里先总结一下影响转染效果的关键因素。从这些关键因素及其背后的原理中，我们既会对如何评估一个转染试剂大概有个谱，也会了解优化转染条件应该从何着手。自己试过才是王道。

- 细胞们的健康状况－－ 健康的细胞们更容易“接受”外来新鲜“事物”，太过拥挤或者稀疏的培养环境会改变细胞表达模式，影响实验结果。原则上，细胞铺板密度维持在 20％－80％之间，千万别等它们长满培养皿才去传代，以减少不稳定因素影响，减少实验之间的差异。细胞在培养过程种会不断发生变化，为最大程度保证实验的可重复性和一致性，传代 10 次以上的细胞应予以丢弃。每次接种传代或者转染细胞的流程和时间间隔都应该严格按照固定的流程，这样有助于提高实验的可重复性。

- 转染试剂的量－－这个是优化转染条件的主要步骤。用量越少对细胞的毒性越小，但也要足以保证转染效率。在选择转染试剂时可以比较推荐用量，作为参考依据。不过每种转染试剂对应不同的细胞株的适应浓度也会有差异，所以在实验起始，可以终浓度 10nM siRNA 为准，参考产品手册上的建议用量，选择上下 3 个不同用量做预实验，以检测基因沉默效果和细胞毒效应----如果细胞毒效应和基因沉默效应都很明显，可以减少用量，最终确立标准用量。不要以为这浪费，可以节约后继实验很多时间和精力。

- siRNA 的质和量－－siRNA 必须彻底脱保护修饰，去除盐，蛋白等杂质，特别是去掉超过 30bp 的长双链 RNA，以免影响结果。最佳沉默效果的 siRNA 终浓度应该是多少？通常 1nM-30nM 足以作为初始摸索范围，太多 siRNA，例如有文献表明超过 100nM 可能会导致抗病毒响应。最适 siRNA 浓度与 siRNAs 的设计有关，也受目标基因及细胞株的影响，好的设计应该是很低的量就能达到最佳沉默效果，以减少脱靶的其他副反应。因此，应该选择有效沉默基因表达中的最低用量作

为固定条件，也建议多尝试几个 siRNAs 以找出用量最小，效果最好的一个。

- 细胞和转染 siRNA 共同孵育的时间——允许越长时间，往往毒性越小，是评估转染试剂毒性的参考。请及时更换培养基以免降低细胞活力。

- 操作简便程度——越简单越好。比如反向转染可以节约一天的时间，同时减少不确定因素如细胞密度等对转染结果的影响。又比如有的转染试剂在有血清的条件下不稳定，因而要求转染前先更换无血清或低血清培养基，由于培养条件的频繁变换对细胞表达模式可能产生影响，对于后继的 mRNA 分析可能产生影响，可能影响实验结果。

- 操作细节问题：如稀释转染试剂或者 siRNA 时，应该先加无血清培养基或者稀释液，再加转染试剂或者 siRNA，**避免转染试剂直接接触指管管壁**。有的脂质体接触普通塑料表面会发生非预期的变化。注意加试剂时避免剧烈温度变化。注意在指定时间混合转染试剂和 siRNA，和混合时的操作----Qiagen 的 HiPerFect 要求振荡混合，Roche 的试剂要求避免振荡，要特别留意说明书。另外转染试剂的保存条件也是值得关注的，有的需要-20° C 保存，有的 4 度保存，有的可以室温保存，妥善保存转染试剂才能令实验前后保持一致性和可重复性。

高效的 siRNA 转染是研究基因沉默是否成功的前提；高效特异的 siRNA 也可能因转染效率低而被闷杀出局。可 RNAi 火啦，现在几乎各品牌都有自己的 siRNA 专用转染试剂，该怎么选择呢？对于刚入门的新手，选择的对策第一通常是检索已经发表的文章中同类细胞所使用的转染试剂。毕竟借鉴别人的成功经验可以减少走的弯路。如果碰巧有多篇文章，而且不同文章居然采用的不同的转染试剂，那更好，可以挑结果最漂亮的，基因沉默效率最高的来借鉴。但是，无论别人如何成功，如果实验室条件允许，我们还是建议在实验初期选择 2—3 种转染试剂来摸索条件，以确定适合自己的最佳选择。毕竟转染效率高低还受到其他因素的影响，而且后继实验是需要观察细胞基因表达模式，选择最适合的转染方法是整个实验中非常重要的一步。

如果找不到相关的文献——可以先找找生物通小编在这里介绍的几种转染试剂的说明书和网上资料看看，许多厂家会把自家转染试剂成功转染的细胞株列种类出来，往往还有转染效果的评估。看看其中有没有你的细胞株，有就可以在其中选一个。如果还是没有？——你是第一个做这种细胞基因沉默的吗？佩服！那最好从下面的描述中选择买几种小包装，先来摸索一下条件（文章发了引用率会高呢）。

虽然说一旦实验室已经建立好针对某个细胞株的 siRNA 转染方法，通常就固定下来维持不便。不过随着 RNAi 研究不断深入，厂家自己也会更新和改进原有的产品。所以，如果你对手头已经做过的 siRNA 转染试剂效果不满意，别放弃尝试寻找更好的、新的转染试剂，但是一定记得从头摸索条件，做好正负对照，防止前后实验“没有可比性”。

转染试剂的选择核心都是一样：转染效率要高，同时细胞毒性要小，用量越少越好，除了 siRNA，其他影响因素越少越好，能更真实反应 siRNA 作用。从前面提及的转染关键要素中，哪些参数可以体现这些要求就不言而喻了。由于每种转染试剂对不同的细胞株都会有不同的染效率——选择 2—3 种转染试剂来摸索条件是有必要的。自己试过才是王道。生物通在此小结市面上好用的 siRNA 专用转染

试剂，仅供参考。

生物通 ebioTips21：在选择转染试剂时，产品介绍往往有 siRNA 抑制效果图，别光看那个曲线下降得漂亮，一定要先看看细胞活力曲线----如果转染试剂用量加大的同时细胞都快死得差不多了，那个目标基因抑制效果再好也不能说明什么。在摸索转染条件时也要特别注意平行比较未转染的阴性对照细胞，荧光定量 RT-PCR 检测结果更应该用 18s 的量做均衡处理才能算数。不管怎么说，如果转染试剂导致细胞活力显著受到影响，基因的表达模式必然受影响，那就不宜采用。

Ambion siPort NeoFX 转染试剂最大的特点快速，节省，方便。因为可以做“反向转染”，1 小时即可完成转染----

1.培养基分别稀释转染试剂（24 孔培养板只要 1ul/孔）和 siRNA，

2.混合静止 10 分钟以生成转染复合物，分装到每个培养皿中，

3.将胰酶处理收获的细胞铺板到转染试剂上，静置培养即可

----这样可以看到比传统方法节省了一天预培养细胞的时间，早一天得到实验结果，此之谓“快”。由于转染复合物在有血清的条件下依然能保持稳定，转染后都不需要更换培养基，操作非常方便，适合大规模转染。按照常规方法转染也一样可以。价格人民币 1600/0.4ml，3134/1ml。由于用量相当节省----400ul 足够做 96 孔培养皿规格的 800 次转染（每次成本 1.5-2 元），24 孔板 400 次转染（每孔成本才 3-4 元），性价比不错。此外这个试剂在很宽的温度范围内都非常稳定----从-20 度到室温 22 度之间可长期稳定保存，不单有助于实验之间保持稳定，连运输保存都非常方便。厂家提供的信息表明成功转染的细胞株种类已有 80 多种，包括 Hela, A549, HEP-G2, MCF-7, SKNAS, SKOv3, UMR106，BJ, HT-29 等细胞株，特别是一些难转染的细胞株也可以用反向转染得到好的结果。值得一试。

Ambion siPort Amine 转染试剂是多胺类聚阳离子转染试剂，用量和用法和 NeoFX 都差不多，同时兼容反向转染或者传统转染方法。传统转染方法预接种铺板，等第二天等细胞密度在 30%-80%间即可加入转染复合物。多胺类转染试剂特别适合 293，CHO，COS，NIH/3T3 类细胞株，同样也适合 BJ，HT-29 类细胞。多胺类转染试剂可以被生物降解，降低脂质体毒性问题，携带/吸附正电有助于穿透细胞膜和保护 siRNA。多胺类转染试剂比较贵，0.4ml 人民币 3218，以 96 孔板计，可以做 800-1300 次转染。

Qiagen 的 **HiPerFect** 转染试剂也是专门为 siRNA 转染而设计的，可以进行反向转染或者“Fast Foward”快速正向转染方法，使得转染在一天之内可以完成。这个转染试剂的特点是毒性很低，不单可以在有血清和抗生素的条件下转染，还可以连续重复转染----就是等第一次转染的细胞汇片后再进行第二次转染（快速正向转染）。等第二次转染细胞汇片后再进行第三次正向快速转染，这样可以用 siRNA 实验类似长效基因沉默的效果。HiPerFect 不单可以转染很多种贴壁细胞，还可以用于转染 Jurkat，K593 等悬浮细胞株，还有巨噬细胞系 macrophage 的 J774.A1 and RAW 264.7 细胞株和成熟的巨噬细胞 Differentiated Macrophage THP-1。以 24 孔培养皿为标准，0.5ml 可以做 166 次转染，每次建议 3ul，报价 2425，7 折后价格还行吧。毕竟是一个非常好用的转染试剂。Qiagen 原来的 TransMessenger 本来也是

用于转染 siRNA、RNA，或者质粒，还可以转染非分裂静止期细胞。不过价格高用量大，不如前者划算。

Sigma 公司的 **N-TER™ Nanoparticle siRNA Transfection System** 是以多肽为基础的，专门用于转染 siRNA 到真核细胞的新产品。N-TER™ 与 siRNA 非共价结合，形成纳米微粒。此纳米微粒与细胞膜上的脂类相互作用，直接透过细胞膜扩散到胞质中。与脂类转染试剂不同，这一新型的转染试剂规避了内涵体通路，因而大大降低了 siRNA 在转染过程中被降解的可能性。N-TER™已被成功的应用于多种细胞株，其中包括原代细胞（如 astrocytes, BSMC, HUVEC,NHEK），**神经细胞**（如 astrocytes, LA-N-2, U-87 MG），分化细胞（NIH/3T3-L1 adipocytes,C2C12 myocytes）和**非分裂细静止期胞**。

Dharmacon 公司的转染试剂比较特别----既然每种类型的细胞都有自己的个性，为什么非要求同存异，牺牲不同类型细胞的最佳转染效果，以求一种“通用、万能”的转染试剂？其实我们都明白单一的转染试剂不可能满足上百种细胞系对 siRNA 的转染要求，因此，Dharmacon 开发的 DharmaFECT 1, 2, 3, 和 4 系列 4 种 Lipid 转染试剂，可适用于数百种细胞系 siRNA 转染，实验人员可根据实验需要可以选择最适合自己的细胞系的转染试剂。DharmaFECT Duo 则特别为 siRNA 和质粒共转染而设计，既能保证 siRNA 高效抑制，也能兼顾质粒报告基因的高效表达。Dharmacon 公司根据中国国内市场的需求，特别推出 0.2mL 的小包装系列，据说还常备现货解决到货速度问题，为初步进行 siRNA 转染实验的研究者提供较为经济的选择。

Bio-Rad siLentFect Lipid Reagent for RNAi，一种高效低毒的阳离子脂质体，专门用于向哺乳动物培养细胞中转染导入 siRNA。只需在很少体积的脂质体和低 siRNA 浓度的条件下就能高效的使目的基因沉默，节约使用成本。无论是贴壁生长细胞还是悬浮细胞，均可实现高效转染，还可以共转染 siRNA 和双链 DNA 载体，应用于 RNAi 实验的优化。已知可用于细胞株包括 HeLa，HUVEC，Jurkat，NIH 3T3，CHO，COS，3T3，HEK，A549，MCF 等细胞株和原代成纤维细胞等 16 种细胞，这个可以在 Bio-Rad 得到资料。siLentFect 真的很省，24 孔板推荐用量 0.75ul（0.25-2ul 之间）/孔，96 孔板用量在 0.05-0.4ul/孔。操作稍微复杂一点，需要先接种铺板细胞，待第二天长至 50%-70%汇片，更换新鲜的培养基，另外用无血清培养基稀释转染试剂和 siRNA，二者需要在无血清条件下温育形成转染复合物，然后直接加入培养细胞中，即可。宣传资料上也提到可用于逆向转染实验，但没有找到详细操作资料。

Roche 的 FuGene 6 转染试剂名满天下，罗氏也推出一个 siRNA Transfection Reagent，可用于 siRNA 转染或者和 DNA 的共转染，常规方法转染。1ml 转染试剂足够 400 次以上的 24 孔培养孔转染，价格 2002。

Promega 公司的 CodeBreaker 转染试剂也是专门为 siRNA 转染而设，适用于 Hela，HEK293，293T，3T3，CHO 等细胞，常规转染方法，无血清培养基稀释，但不需要更换培养基。24 孔板每孔用量 2－4ul。

Invitrogen 推出了 Lipofectamine RNAiMAX 转染试剂，比原来的 Lopofectamin 细胞毒性要小，转染效果更好。

市面上还有好多牌子的 siRNA 转染试剂，比如 SantaCruz 价格便宜但是操作比较复杂，不能在有抗生素和血清的培养基中转染，还有 Novagen 和 Stratagene 的 siRNA 转染试剂虽然好用但价格偏高，我们就不一一介绍了。Silencer Cell Ready Transfection Optimization Kit 是为 Ambion 公司的 CellReady96 孔板系列准备的，用于大规模转染前摸索条件。就是将正对照 siRNA 预铺 96 孔培养皿，做时只要加入各种条件的稀释转染试剂，配上各种密度的细胞就可以检测各种条件下的转染效率。

5.4 特别难转染的贴壁细胞，悬浮细胞，原代细胞等的转染。

转染试剂并非万能，对于特别难转染的贴壁细胞，悬浮细胞，原代细胞等的转染，可以考虑电转或者用病毒载体。电转，也就是电穿孔技术，是通过一个高强度的电场作用，瞬时提高细胞膜的通透性，使周围介质中的外源分子可以穿越细胞膜进入细胞。我们前面说过 RNAi 实验并不需要特殊的仪器，不过这里你会发现，有电转移仪或者叫做电穿孔仪的实验室会是很有优势，不单可以对付各种难搞的细胞，对常用细胞，你甚至可以省掉转染试剂的费用。从理论上说，电转可用于各种细胞，甚至体内 RNAi 局部器官。但是电击对细胞的杀伤力和潜在的影响一直也是争议的中心。因此电转的仪器和 Buffer 对于 RNAi 实验的成功来说非常重要。需要摸索的条件通常包括电击电压（100V-500V），电击时间（100-800usec），电击次数（1-3 次），Buffer。

Bio-Rad 公司的 **Gene PulserXcell™** 电穿孔仪系统已经被研究者广泛的应用于 siRNA 和 DNA 质粒的细胞转导。无论是原代培养细胞、悬浮细胞还是难于转染的细胞类型，均能够实现高效导入。Bio-Rad 专利的 PulseTrac™ 电路设计，确保结果的重复性和对样品的保护技术。参数可调，界面友好，使用方便，方波输出可以为敏感细胞提供温和的转导条件。另外，Bio-Rad 公司超酷的 **Helios®** 手提式基因枪和 **PDS-1000/He™** 台式基因枪也可用于 RNAi 实验。其原理是利用物理方法----氦气脉冲加速直接包被有核酸的金属微粒，将核酸接打入细胞内。在 RNA 干扰实验中，基因枪技术特别适于用来介导特殊类型细胞的转导，例如植物细胞----因为其含有细胞壁而不适于脂质体法转染或者电穿孔法导入。基因枪可以实现对细胞的体外或原位转导。适用于目的基因的瞬时和稳定表达。

就算是不需要转染试剂的电转，厂家们也能推出试剂盒，比如 Ambion 的 siPort siRNAElectroporation Buffer 和试剂盒，据说这 Buffer 特别温和，还有能帮助细胞在电击后修复穿孔的细胞天然成分，有助于提高电击后细胞的活力。检测方法可以用 Cy3 标记的对照 siRNA 来检测转染效果。不过价格真不便宜。Ambion 还有个 96 孔电转 Chamber，是专门配 Bio-Rad® Gene Pulser Xcell™ Pulse Generator 的，一次可以转 96 个样品，不需要其他耗材，算比较方便吧。比较厚道的是 Ambion 公司在网上提供了不少难转染的细胞或者原代细胞的电转条件，对于电转初始者摸索条件来说很有帮助。我推荐的是这个。

5.5 如何评估 siRNA 转染效率？

荧光标记的对照 siRNA 转染目标细胞，可以借助荧光显微镜或者流式细胞仪来检测

siRNA 是否已经进入细胞中，以及观察 siRNA 在细胞中的定位，siRNA 的稳定性，甚至帮助识别已经转染的细胞。不过，由于 siRNA 进入细胞并不等于成功诱发了 RNA 干扰，吸附在细胞膜表面的荧光染料也可能会干扰结果，所以，这种快速而廉价的方法只适合作为评估转染是否成功的方法，也有人用来作为评估转染效率的工具。但是要特别留意，对于某些脂质体转染试剂和细胞，荧光强度变化和对照 mRNA 的下降并不一定相关，作为评估 RNAi 效率不一定适合。

当然，带有荧光标记的正对照还是很快很直观。荧光标记的 siRNA 转染浓度可能要高于未经修饰的 siRNA，通常需要到 100nMol。各家公司有提供带有荧光标记的正对照或者负对照 siRNAs，也可以在化学合成 siRNA 时要求厂家添加标记，标记的合成 siRNA 至少需要 HPLC 纯化级别。

Ambion 还有个荧光标记试剂盒 Silencer Cy3 and FAM siRNA Dye-labeling Kits，可标记化学合成或者酶法合成的 siRNA。比较简单，2 种荧光素标记可供选择，标记反应会标记在 2 条链上，不影响效果。

除了荧光标记 siRNA，通常建议选择 2-3 种转染试剂，分别尝试不同浓度和不同的细胞密度，优化转染条件可用正对照在 96 孔培养板上进行，并检测正对照结果。Ambion 的 KDalert. GAPDH Assay Kit 可直接用转染后的细胞裂解后加入检测试剂可直接检测发光信号，从而比较不同转染条件的差别，也可以用于检测未处理细胞和负对照之间的区别，得到转染试剂毒性的数据。

6 siRNA 实验设置和参照系

前面提到的 RNAi 实验 4 大要素，第三点就是参照。由于 RNA 干扰实验本身就是对比研究干扰前后基因表达模式的相对差别，所以参照是必不可少的。没有完整的参照系，实验结果就没有分析的意义。由于不断有文章指出 siRNA 因为浓度、或者 siRNA 本身的长度、或者 siRNA 作用机制等因素而导致的非预期脱靶反应，设计全面的参照体系对于正确评估 siRNA 干扰结果非常重要。

空白对照：未转染细胞的空白对照可作为细胞正常的表达模式和细胞活力基础参照；

转染试剂对照：仅加入转染试剂的空白对照则可用于评估转染试剂对细胞毒性和细胞基因表达模式的非特异影响；这一步也可放到摸索转染条件时做。

负对照：转染非靶向的 siRNA 负对照，可用以排除转染 siRNA 本身对基因表达可能造成的任何非特异影响，严谨的实验更是要求 2 个以上不同的负对照；非靶向 siRNA 负对照通常是选择和人类、小鼠、大鼠等基因不同源的序列，用于排除转染 siRNA 对细胞表达模式的非特异影响。基本上每个厂家都有卖，也是必须的。进口品牌比较贵，国内厂家合成的便宜些。比如 Ambion 提供 3 种负对照，5nmol 价格 2000 人民币，40nmol 6600；韩国 Bioneer 的 siRNA 负对照有荧光标记和未标记两种，OPC 纯化方式 5nmol 负对照人民币价格约为 800。采用荧光标记的负对照还可以用于直观地观察转染效率。

正对照：选择靶向一个在多种细胞内持续、恒定、高表达，且容易检测的内源基因作为正对照，用以验证转染条件和本次操作反应条件的可行性。正对照和选择的细胞来源和基因有关。比较常见的是用看家基因或者持续稳定高表达的基因作为正对照，比如 GAPDH，还有 KIF11，beta-actin，Cyclophilin，Lamin