

会引起通路组分或是目的基因表达的降低。由于缺少了干扰素对于 dsRNA 的反应, RNAi 技术在无脊椎动物中可以达到更高的效率。从含有 T7 启动子的 DNA 模板合成 500 – 700bp 的 dsRNA 加入到果蝇细胞的培养基中进行 RNA 干扰<sup>[7]</sup>。dsRNA 通过某种未知的运输机制进入到细胞中, 在内部加工成 21mer 的 siRNA。参照试验方法, 剔除实质性的组份 IMD 后, 我们检测了目的基因的表达变化。细胞与沉默 imd 的 dsRNA 被大肠杆菌诱导过夜。以 RNAi 绿色荧光蛋白(GFP)做为阴性对照, 分离总 RNA 往反转录后, 使用 UPL 通用探针检测 cecA2 转录子的表达水平。采用了抗 imd 的 RNAi 后, cecA2 的表达水平明显减少, 而 rp49 则没有受到影响(图 3)。结果表明了在降低目的基因表达量中 imd 的必要性。此外, 我们也检测了 imd 转录子的基因沉默是否可以使用 RT-PCR 的方法检测。如图 4 所示, 抗 imd 的 RNAi 有效减少 91% 的 mRNA 表达水平。

### 结论

信号通路的系统分析成为现代生物学的一个主要问题。发展定量和多种测量基因表达动力学范围的工具仍然是一个重要的挑战。RNAi 方法广泛应用细胞通路中

蛋白作用的研究。通过 RNAi 使得基因的表达沉默及衡量信号通路中目的基因表达调控的功能缺失表型, 确定靶基因在特定信号通路中的作用。通过使用 UPL 预先设计的探针提供了更加灵活的基因表达定量检测方法。因此, 将 RNAi 和 RT-PCR 方法相互结合, 为探究特异基因参与的信号通路研究提供了更加有力的工具。UPL 这类预先设计好的探针可以明显的缩短 RT-PCR 检测所需的时间和费用。

### 参考文献:

- 1 Hannon GJ (2002) Nature 11; 244 – 251
- 2 Mouritzen P(2005) Nature Methods 2:313-316
- 3 Hoffmann JA (2002) Nature Immunology 3:121-126
- 4 Hoffman JA(2003) Nature 6:33-38
- 5 Boutros M(2004) Science 6; 832 – 835
- 6 Boutros M(2002) Developmental Cell 3; 711 – 722
- 7 Clemens JC(2000) Proc Natl Acad Sci USA 6:6499-6503

产品名称	包装规格	序列号
Universal ProbeLibrary Set, Drosophila	90 Probes for 625 reactions of 20 µl or 250 reactions of 50 µl	04 683 625 001

## 罗氏应用科学部网站转染产品专区

### 全面的信息, 让您的研究更进一步

点击 [www.roche-applied-science.com/transfection](http://www.roche-applied-science.com/transfection), 就可以浏览到广受欢迎的转染产品专区的最新内容。无论您是想要获得关于转染方面的最新技术信息, 还是 FuGENE® HD 转染试剂的详细产品信息, 该网站都可以为您提供有价值的信息, 为您的研究助一臂之力。



### 最新内容更新

只要简单点击一下左手边的多个主题中的任意一个, 就可以轻松获取相应信息, 包括:

==> **Application/Protocol:** 可获取成功转染的原代或已建立的细胞列表, 针对不同细胞型的特别操作步骤和试验数据、应用指南、操作和优化过程技术提示等等

==> **Product Profiles:** 浏览详细的产品信息

==> **Transfection Cells Database:** 定期更新发表的使用罗氏转染试剂的文章; 可通过细胞型、转染物类型、转染试剂或是以上任何组合搜索您感兴趣的细胞类型和应用领域已被证实的操作指南。

==> **Feedback:** 通过电子问卷形式将您对产品的评价信息反馈发到我们的数据库中。

### 新功能

现在起您可以通过 **Application/Protocol > Transfected Cells** 中预先确定好的列表或 **Transfected Cells Database** 中灵活的搜索功能查询成功转染的细胞列表。如果您愿意, 还可以 PDF 文件的形式下载保存。

罗氏应用科学部致力于将您的转染实验提升到更高的水平。