

体外化学合成 bcl-2 siRNA 及脂质 siPORT 脂质体转染 siRNA 至细胞 HL-60 的鉴定

燕春艳¹, 雷小勇², 涂玉林¹

(南华大学 1. 心血管病研究所, 2. 药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; RNA 干扰; siRNA; 双链 RNA

目的 为将 RNA 干扰技术深入应用到血液肿瘤做铺垫, 体外化学合成 bcl-2 小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 及 siPORT 脂质体转染 siRNA 至细胞 HL-60 的鉴定。**方法** 通过互联网从 GenBank 获得人 bcl-2 mRNA 全序列, 经扫描 bcl-2 mRNA 的全序列记录 AA 及下游 19 个核苷酸并与基因组数据库比较去除与其它基因有高度同源性的序列, 选取距离 AUG 启动子约 30 个核苷酸以后的靶序列作 siRNA 模板的设计, 且 GC 含量控制在 30%~65% 之间。选择了三条序列作为我们实验设计的靶序列并由靶序列设计合成出它们的正、反义寡核苷酸模板。由化学合成试剂盒体外合成双链 bcl-2 siRNA, 纯化并定量后用 Cy3 红色荧光标记, 利用脂质 siPORT 转染试剂将 bcl-2 siRNA 转染入 HL-60 细胞, 转染 48 h 后收集并固定细胞, 荧光显微镜下观察转染结果。**结果** 纯化的 siRNA 经 2% 琼脂糖凝胶电泳证实其长度为 21 bp, 说明 bcl-2 siRNA 被成功合成。转染 Cy3 标记的 siRNA 48 h 后的细胞荧光显微镜下经绿色光激发可见较亮的深红色荧光, 而未转染 bcl-2 siRNA 的细胞仅有微弱的红色自发荧光。**结论** 体外成功化学合成 bcl-2 siRNA, Lipid siPORT 转染试剂能将 bcl-2 siRNA 成功转染入白血病细胞 HL-60 中。