

siRNA的解链分析方法

张海明

应用及技术服务部

天津博纳艾杰尔科技有限公司, 天津开发区西区南大街179号, 300462

概述

siRNA (dsRNA) 通过核酸内切酶Dicer蛋白被切割成小的dsRNA片段 (siRNA)。随后, siRNA 与Argonaute-2 (AGO2) 蛋白结合, Argonaute-2蛋白被认为是称为RNA诱导沉默复合物“RISC”的多蛋白复合物的核心, 随后将siRNA分离成两条单链: 引导链 (guide strand) 和乘客链 (passenger strand)。然后, 乘客链被降解, 而引导链-RISC复合物与互补的靶向mRNA连接并将其破坏成非功能性部分, 从而阻断靶蛋白的翻译。

关键词

siRNA; Biozen Oligo; LC-MS/MS

化合物信息: 保密

实验部分

3.1仪器、试剂与材料

3.1.1主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪(AB SCIEX Triple Quad™5500), 配有电喷雾离子源(ESI);

3.1.2试剂材料

色谱柱: Biozen Oligo (2.1×50 mm, 2.6 μm, 100 Å); P/N: 00B-4726-AN

实验用水、乙腈、HFIP、DIEA、碳酸氢铵、乙酸钠均为色谱级。

3.2仪器检测条件

3.2.1色谱条件

色谱柱: Biozen Oligo (2.1×50 mm, 2.6 μm, 100 Å)

流动相A相: 0.5% HFIP, 0.1% DIEA水溶液;

流动相B相: 0.5% HFIP, 0.1% DIEA乙腈溶液;

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 80 °C;

进样量: 3 μL;

梯度程序见表1:

表1. 梯度条件

时间 (min)	流速 (mL/min)	B (%)
0	0.3	5
0.4	0.3	5
8.0	0.3	20
10.0	0.3	100
12.0	0.3	100
12.5	0.3	5
17.0	0.3	5

3.2.2质谱条件

离子源类型: 电喷雾离子源 (ESI-)

扫描方式: 多反应监测正负离子模式 (MRM)

喷雾针电压: -4500 V

离子源温度: 500 °C

加热器 (GS1): 60 psi

辅助加热气 (GS2): 60 psi

气帘气 (CUR): 40 psi

碰撞气 (CAD): 9 psi

为获得较好的稳定和灵敏度, 各化合物监测离子对的去簇电压 (DP) 和碰撞电压 (CE), 目标化合物定量离子对以及内标监测离子对等参数均经过系统优化, 优化信息参见表2。本案例参数仅供参考不具备法律效力。

表2化合物定性、定量离子和质谱分析参数

目标物信息	Q1	Q3	DP/V	CE/V
L1	774.8	438.1	-80	-50
L2	774.8	666.1	-80	-50
R1	798.1	430.4	-80	-30
R2	798.1	955.8	-80	-30

3.3实验谱图

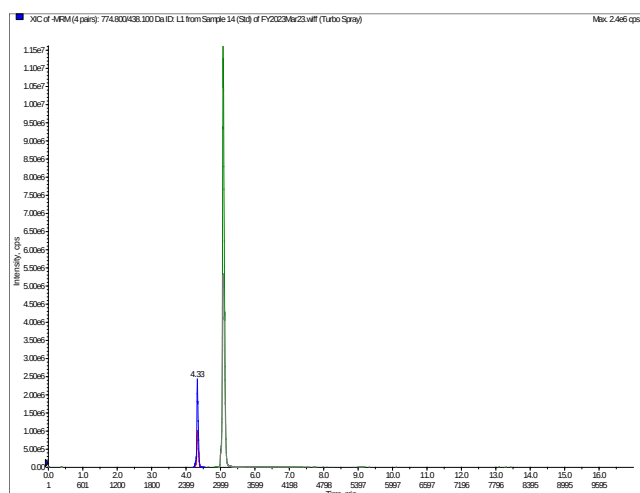


图1. 0.5 umol/L 色谱图

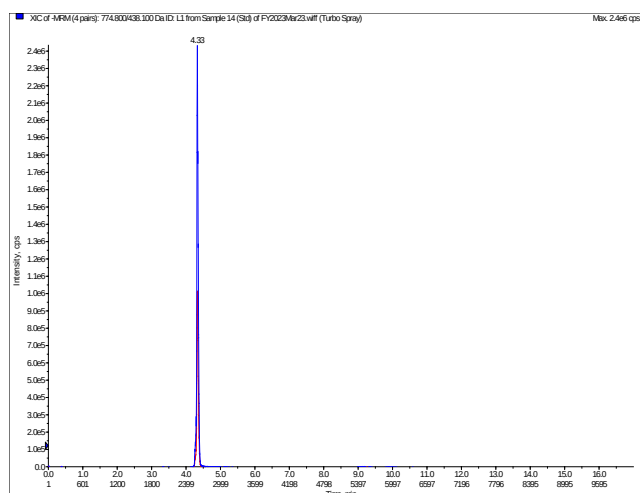


图2. 0.5 umol/L 单链色谱图 $t_r=4.33$

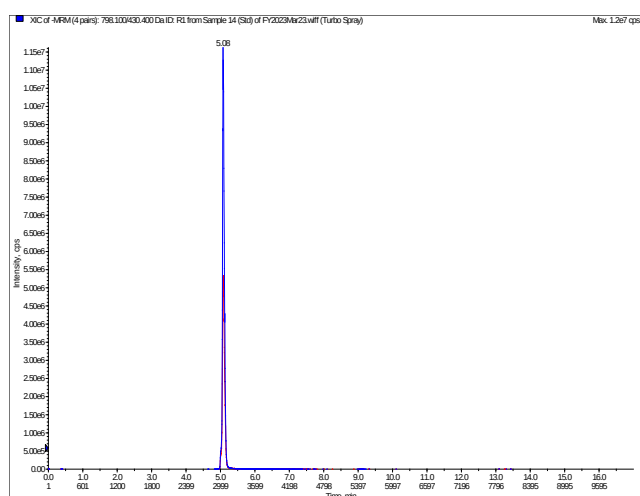


图3. 0.5 umol/L 单链色谱图 $t_r=5.08$



结论

本条件下siRNA的两条链实现色谱分离，能够满足标准检测方法要求。

附：相关产品

产品名称	规格描述	包装数量	订货号
Biozen Oligo	2.6 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm	1支	00B-4726-AN
Clarity OTX 96	25 mg	1块/PK	8E-S103-CGA
保护柱卡套	Security Guard Kit	1/PK	KJ0-4282
保护柱柱芯	4 $\times$ 3.0 mm	10/PK	AJ0-4287



Xccelerator 加速服务

探索分离, 使命加速

Mission to Accelerate Separation

在新药、仿制药研发和科学研究过程中, 抢占先机越来越多被大家提及, 同时在食品、环境、临床等行业的客户也都面临着项目周期压缩的压力。基于此, 我们成立了上海和天津两个方法开发服务中心, 为客户加快项目进度提供支持。

Xccelerator 以客户为中心, 以色谱技术为中心, 为药物研发和科学研究提供全方位加速服务。

三大研发中心

中国天津

地址: 天津市开发区西区南大街179号

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

中国上海

地址: 上海市长宁区福泉北路518号1号楼1层

电话: 400-606-8099

邮箱: cninfo@phenomenex.com

美国总部

地址: 411 Madrid Avenue Torrance, CA 90501-1430, USA

Tel: +1 (310) 212-0555

Fax: +1 (310) 328-7768

Email: cninfo@phenomenex.com

仅用于研究目的, 不可用于临床诊断程序。

© 2022 天津博纳艾杰尔科技有限公司保留所有权利。



如果您对于本方法的执行有任何问题, 或想要了解更多信息, 请拨打400-606-8099 联系我们的技术专家, 我们很乐意为您提供帮助!

Confidential - Company Proprietary

