

说明书

RNA 转染试剂 RNA Transfection Reagent

产品介绍

研谷 RNA 转染试剂是一种独有的 RNAi 特异性阳离子脂质体转染试剂，本品推荐用于将 siRNA、microRNA(miRNA)、mimic、inhibitor 等小片段 RNA 转染入动物细胞，本品在多种细胞系的验证中均表现了很好的 RNA 转染效率，并有很低的细胞毒性。

特点

- 专门优化用于 siRNA、microRNA(miRNA)、mimic、inhibitor 转染等。
- 转染效率高，可在低 siRNA 浓度下实现高效的基因敲低。
- 适用于多种细胞类型（包括难转染的原代细胞、干细胞等）。
- 针对 miRNA 拮抗剂和模拟物具有出色的转染效率。
- 细胞毒性低、易于优化，简单、高通量的即用型转染。

储存事项

冰袋运输，避免冰袋直接接触；避免光源热源，长时间储存于 4℃，切勿冻存，有效期 24 个月。

注意事项

- △ 整个实验过程避免细胞污染，注意无菌操作，转染前需调整细胞状态，选择细胞状态最佳时机进行转染。
- △ 由于不同细胞耐受性不同，建议您在做批量实验前，分不同梯度量先做预实验，摸索最佳 RNA 和 转染试剂的混合比例。（在保证细胞状态前提下，增加转染试剂及 RNA 用量会相对提高转染效率）
- △ 如转染后需要用 Trizol 提取 RNA，建议转染后 6 小时换液。

操作步骤 (以 24 孔板 siRNA 转染为例)

1. 细胞种植

贴壁细胞：提前 24h 接种于 24 孔板，转染时汇合度需达到 60%~80%。

悬浮细胞：采用对数生长期的细胞，数量为常规培养细胞数的 1/3 进行转染实验。

2. 转染过程

- (1) 取 0.67ug(50pmol)的 siRNA，加入无血清稀释液，充分混匀，制成 RNA 稀释液，终体积为 25μl。
注意：减血清稀释液建议采用本公司专用培养基 Ordi-MEM (OPTI-MEM)，或可用无血清 DMEM、1640 代替，不可用 PBS。
- (2) 取 1ul 的 RNA 转染试剂，然后加入 24ul 无血清稀释液体，充分混匀，制成转染试剂稀释液，终体积为 25μl。室温静置 5 分钟。
- (3) 将转染试剂稀释液和 RNA 稀释液充分混合（可用振荡器振荡或用加样器吹吸 10 次以上）混合，室温静置 5-15 分钟。转染复合物制备完成。
- (4) 将 50μl 转染复合物滴加到有 0.45ml 全培养基的细胞中，混合均匀。（此步骤尽量遵循少量多次原则，沿四周向中间缓慢加入试剂，避免重复滴入同一位置，以免局部试剂浓度过高对细胞造成毒性影响）
- (5) 转染后 6 小时观察细胞状态，如状态良好可不必更换培养基，继续培养 24~96 小时得到结果。

***注意:**

1. siRNA 转染后, 继续培养 24-72 小时在 mRNA 水平得到结果, 继续培养 24-96 小时在蛋白水平得到结果。mRNA 转染后, 根据需要在 24 小时后得到结果。
2. 由于血清和培养条件等差异, 转染后镜下培养基中可能出现少量黑点状沉淀, 为转染试剂和血清中蛋白结合产物, 不影响转染结果和细胞状态, 可通过换液体除去。
3. 不同 RNA, 使用量略有不同, 建议用量参照下表:

细胞培养容器	表面积 (cm ²)	培养基总体 积	稀释液体积	siRNA 等较短 RNA		mRNA, shRNA 等较 长 RNA	
				RNA 用量	转染试剂用量	RNA 用量	转染试剂用量
96-well	0.3	100μl	10μl×2	0.15μg	0.1-0.3μl	0.25μg	0.375μl
48-well	0.7	200μl	15μl×2	0.3μg	0.2-0.6μl	0.5μg	0.75μl
24-well	1.9	500μl	25μl×2	0.67μg	0.5-1.5μl	1μg	1.5μl
12-well	3.8	1ml	30μl×2	1.33μg	1.0-3.0μl	2μg	3μl
6-well/35-mm	10	2.5ml	50μl×2	3.33μg	2.5-7.5μl	5μg	7.5μl
60 mm/T25	21	5ml	125μl×2	6.67μg	5-15μl	10μg	15μl
100mm/T75	58	15ml	250μl×2	20.0μg	15-35μl	30μg	45μl

由于 RNA 序列差异、合成条件不同以及是否带有荧光等标记, 决定了 RNA 和转染试剂在不同情况下会有不同的最佳条件, 建议先进行预实验优化。如果细胞敏感、耐受性差, 建议减少转染试剂用量。在细胞状态允许的情况下或者相对难转染的细胞, 可适当提高 RNA 及转染试剂用量, 以提高转染效率。首次实验可先进行不同浓度的梯度测试, 选择最佳的转染比例。图表里面推荐的用量仅供参考, 可根据自身实验情况优化调整用量。下表列出了在 24well 的优化方案, 供参考。

RNA 浓度和转染试剂量的优化(24well)

	1	2	3	4
RNA 工作浓度	25nM	50nM	100nM	150nM
每孔 RNA 的量	0.17μg	0.33μg	0.67μg	1μg
(pmol)	(12.5pmol)	(25pmol)	(50pmol)	(75pmol)
每孔转染试剂用量	0.25μl	0.5μl	1μl	1.5μl

根据优化实验结果, 固定 RNA(μg)/转染试剂量(μl)的比值, 按培养器皿表面积比例应用到其他培养容器。



重要提示

产品用途: 仅供研究使用, 不适用于人或动物的体外诊断与治疗。

由于实验受多种因素影响具有不确定性, 本说明书操作说明仅供参考, 最终解释权归本公司所有。

警告! 产品对人体危害性未知, 请遵循操作说明。穿戴适当的防护眼镜、衣服和手套!

