

## siRNA/miRNA Transfection Reagent

### siRNA/miRNA 转染试剂

产品编号	产品名称	规格
BL2358A	siRNA/miRNA转染试剂	0.8ml

#### 产品简介:

siRNA/miRNA 转染试剂是一种新型高效阳离子聚合物, 其可与 RNA (包括 siRNA、miRNA) 相互作用形成复合物将 RNA 递送至真核细胞内, 具有转染效率高, 细胞毒性小, 生物相容性好等特点, 尤其适合各种高通量细胞筛选实验, 方便、快捷、高效。

siRNA/miRNA 转染试剂通过内吞作用进入细胞后, 表达“质子海绵效应”的特性, 缓冲内体 pH 值, 保护 RNA 不被降解, 连续的质子内流也可引起溶酶体渗透肿胀和破裂, 为 RNA 逃逸到细胞质提供了机制。

#### 产品组分:

产品编号	产品名称	规格
BL2358A-1	siRNA/miRNA 转染试剂	0.8ml
BL2358A-2	5%葡萄糖溶液	8ml

#### 使用方法:

##### 一、接种细胞

转染前 18~24 小时将细胞接种在孔板中, 细胞密度以及培养液体积如表 1 所示:

表 1 细胞接种量以及培养液体积推荐量

细胞培养装置	细胞接种数量	培养液体积(ml)
96 孔板	$(0.5-0.8) \times 10^4$	0.2
24 孔板	$(2.5-3) \times 10^4$	0.5
12 孔板	$(1-1.5) \times 10^5$	1
6 孔板	$(3-3.5) \times 10^5$	2
100mm 培养皿	$(0.8-1) \times 10^6$	10

##### 二、准备 RNA-转染试剂复合物

1、使用 W  $\mu$ l DEPC 无菌水配制的 5%葡萄糖溶液, 将 X  $\mu$ g 的 RNA (DEPC 无菌水配制) 稀释至所需终浓度。

**注意:** 根据细胞和目的基因的差异, RNA 所需终浓度可能在 1~50nM 之间, 常见参考剂量 20-30nM。更准确的数据可根据梯度实验测试, 或查阅相关实验参考文献。

2、立即再加入 Y  $\mu$ l 的 siRNA/miRNA 转染试剂。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



注意：RNA 与 siRNA/miRNA 转染试剂的推荐使用比例为质量体积比 1:2 (w/v, 1 $\mu$ g RNA 使用 2 $\mu$ l siRNA/miRNA 转染试剂进行转染)。

3、充分混匀后室温静置 20 分钟

### 三、细胞转染

1、在形成复合物过程中，将步骤一准备好的细胞培养基替换为无血清、无双抗的培养液（也可采用含 3%血清、无双抗的培养液），加入的培养液体积为 Z ml.

2、加入步骤二准备好的 siRNA/miRNA 转染试剂与 RNA 复合物。

3、37 $^{\circ}$ C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。转染 24-48 小时后（中途无需换液，也可根据细胞种类于转染 6 小时后加入含血清培养基），采用适当的方法进行检测。

表 2 常用细胞培养装置中细胞转染时各组分使用剂量

细胞培养装置	培养液终体积 (ml)	X: 加入 RNA 的量。 RNA 分子量 14kD, 终浓度 1nM 为例	Y ( $\mu$ l): 加入转染试剂的体积	W ( $\mu$ l): RNA-转染试剂复合物总体积	Z (ml): 加入的无血清培养基体积
96 孔板	0.2	2.8ng (0.2pmol)	$5.6 \times 10^{-3}$	40	0.16
24 孔板	0.5	7.0ng (0.5pmol)	$1.4 \times 10^{-2}$	100	0.4
12 孔板	1	14ng (1pmol)	$2.8 \times 10^{-2}$	200	0.8
6 孔板	2	28ng (2pmol)	$5.6 \times 10^{-2}$	200	1.8
100mm 培养皿	10	140ng (10pmol)	0.28	500	9.5

注意：表中配比为 RNA 终浓度为 1nM 时，1 孔中细胞转染所需的量，使用时请依据不同 RNA 终浓度进行相应倍比调整。

表 3 常用细胞培养装置中细胞转染时各组分使用剂量(大分子量 RNA)

细胞培养装置	培养液终体积 (ml)	X: 加入 RNA 的量。 RNA 分子量 60kD, 终浓度 1nM 为例	Y ( $\mu$ l): 加入转染试剂的体积	W ( $\mu$ l): RNA-转染试剂复合物总体积	Z (ml): 加入的无血清培养基体积
96 孔板	0.2	12ng (0.2pmol)	$2.4 \times 10^{-2}$	40	0.16
24 孔板	0.5	30ng (0.5pmol)	0.06	100	0.4
12 孔板	1	60ng (1pmol)	0.12	200	0.8
6 孔板	2	120ng (2pmol)	0.24	200	1.8
100 mm 培养皿	10	600ng (10pmol)	1.2	500	9.5

注意：表中配比为 RNA 终浓度为 1nM 时，1 孔中细胞转染所需的量，使用时请依据不同 RNA 终浓度进行相应倍比调整。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



**注意事项:**

1、转染前细胞应处于对数生长期的良好状态，推荐细胞传代后 12-24 小时内转染，细胞密度控制在 50%-70%。

2、使用高纯度的 RNA 是转染成功的关键因素，在转染前确定 RNA 的含量和纯度，实验过程中使用 DEPC 处理过的耗材和试剂，避免 RNase 污染；另外 RNA 与转染试剂复合物制备时盐含量高会导致复合物形成时产生沉淀，因此应将 RNA 重悬于 5%葡萄糖溶液（由无菌 DEPC 水配制）或 DEPC 水中。

3、RNA 与转染试剂复合物应现配现用；配制后的 RNA 与转染试剂复合物应于 1h 内用于细胞转染。

4、体外细胞转染时血清的影响：高浓度血清的存在会影响转染试剂与 RNA 形成复合物。因此推荐转染过程中使用无血清培养基，以达到复合物形成的最佳效果；如细胞对无血清条件完全不能耐受，则推荐转染过程使用不高于 3%含量的血清；复合物进入细胞后（约需 4-6 小时），血清的存在并不影响复合物的转染效果，因此转染 4-6 小时后可加入含血清培养基继续培养细胞。

5、体外细胞转染推荐稀释液：5%葡萄糖溶液（w/v，用无菌 DEPC 水配制），转染试剂试剂可用该稀释液稀释，稀释后的 siRNA/miRNA 转染试剂置于 4℃或-20℃保存，两周内稳定。

6、为了达到更好的转染效果，可根据实验需要优化 RNA 与转染试剂的配比，推荐优化比例范围为 1:2~1:8（w/v，RNA:siRNA/miRNA 转染试剂）

7、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**保存条件:**

4℃保存，有效期 12 个月。

