

RNA 转染试剂

R-100 RNA Transfection Reagent

产品描述:

攸碧艾的 RNA 转染试剂 R-100 RNA Transfection Reagent 是一种独有的 RNAi 特异性阳离子脂质体转染试剂, 本品适用于将 siRNA、microRNA (miRNA)、miRNA mimic、miRNA inhibitor 等小片段 RNA 转染入动物细胞 (包括各种细胞系、原代细胞、悬浮细胞、昆虫细胞等)。

本产品在多种细胞系的验证中均表现出优秀的 RNA 转染效率, 并且细胞毒性很低。

产品规格:

产品名称	货号	规格	保存条件
RNA 转染试剂 R-100 RNA Transfection Reagent	U31-661A	1.5ml	4℃
RNA 转染试剂 R-100 RNA Transfection Reagent	U31-662A	0.75ml	4℃

产品特点:

- 1、转染效率高, 所需 RNAi 浓度低, 基因表达效果好, 非特异性效应极少。
- 2、针对 miRNA 拮抗剂和模拟物具有出色的转染效率。
- 3、细胞毒性低, 易于优化, 可用于多种细胞类型。
- 4、简单、高通量的即用型转染。
- 5、可常温运输。

使用说明:

不同的细胞类型和不同面积的孔板转染操作略有不同, 以 24 孔板 siRNA 转染为例。

1、接种细胞:

对于贴壁细胞, 提前将细胞接种在 24 孔板中, 过夜培养至细胞贴壁且细胞汇合度在 30%-50%时转染。转染前全培养基总量为 0.45ml。



对于悬浮细胞，采用对数生长期的细胞，数量为常规培养细胞数的 2/3 时进行转染实验。

2、转染步骤（试剂推荐用量见表 1）：

（1）取一无菌无酶离心管加入无血清稀释液和 0.67 μ g(50pmol)的 siRNA，充分混匀，制成终体积为 25 μ l 的 RNA 稀释液（无血清稀释液建议采用 OPTI-MEM、无血清 DMEM 或 1640），室温静置 5min。

（2）取另一新的无菌无酶离心管加入 24 μ l 无血清稀释液和 1 μ l 的 R100，充分混匀，制成终体积为 25 μ l 的 R100 稀释液，室温静置 5min。

（3）将 R100 稀释液和 RNA 稀释液混合并轻轻吹打均匀，室温静置 15min 即完成转染复合物的制备。

（4）将 50 μ l 转染复合物滴加到含有 0.45ml 完全培养基（可含 10%血清和抗生素）的细胞上，混合均匀。

（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。

3、优化：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。表 2 列出了 24-well 转染的优化方案，供参考。根据优化实验结果，固定 RNA(μ g)：转染试剂量(μ l)的比值，按培养器皿表面积比例应用到其他培养容器。

表 1. 不同细胞培养容器转染推荐用量

细胞培养容器	共享试剂		siRNA 等较短 RNA		miRNA、shRNA 等较长 RNA	
	培养基总量/孔	稀释液总量/孔	siRNA 用量/孔	R-100 用量/孔	miRNA 用量/孔	R-100 用量/孔
96-well	100 μ l	10 μ l	0.15 μ g	0.25 μ l	0.25 μ g	0.375 μ l
48-well	200 μ l	15 μ l	0.3 μ g	0.5 μ l	0.5 μ g	0.75 μ l
24-well	500 μ l	25 μ l	0.67 μ g	1 μ l	1 μ g	1.5 μ l
12-well	1ml	25 μ l	1.33 μ g	2 μ l	2 μ g	3 μ l
6-well/35mm	2.5ml	50 μ l	3.33 μ g	5 μ l	5 μ g	7.5 μ l
60mm/T25flask	5ml	125 μ l	6.67 μ g	10 μ l	10 μ g	15 μ l
100mm/T75flask	15ml	250 μ l	20 μ g	30 μ l	30 μ g	45 μ l



表 2. RNA 浓度和转染试剂量的优化(24-well)

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

注意事项:

- 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。miRNA 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，转染后在显微镜下可能观察到培养基中出现少量黑点状沉淀，大概率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，可通过换液除去。
- 3、整个转染实验过程中要注意无菌操作，避免细胞被污染污染。
- 4、由于不同细胞耐受性不同，建议在做批量实验前先进行预实验，设置梯度用量摸索最佳 siRNA 和 R-100 的混合比例。优化后可根据自身细胞情况决定具体用量。
- 5、采用本品进行转染时，RNA 用质量(μg)进行计量，对于 21nt 双链的 siRNA，1OD=3.0nmol=40μg。
- 6、siRNA 等较短 RNA 请参照表 1 中 siRNA 用量，miRNA、shRNA 等较长 RNA 请参照表 1 中 miRNA 用量。
- 7、如转染后需要提取 RNA，建议转染后 6 小时换液。
- 8、本产品仅作体外科研使用，不可用于临床诊断或治疗。
- 9、实验员请穿实验服并佩戴一次性手套操作，建议佩戴适当的防护眼镜。使用时注意有效防护，请勿接触人体，如果不慎接触，应立即用大量的水冲洗，若身体不适立即前往医院治疗。

保存方法:

4℃保存，2 年有效，切勿冻存。冰袋或者湿冰运输，短时间内可室温运输，但需避免光源热源。

使用范围:

仅限科研使用，不能应用于临床。

