

BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂

货号	规格
KX0110049	0.8ml

运输保存：常温运输，4℃保存，稳定保存期 12 个月。长期保存置于-20℃；

试剂组分：

试剂盒组分	规格	保存
BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂	0.8ml	4℃保存
5%葡萄糖溶液（DEPC 水配置）	4ml	4℃保存

产品描述

BioShuttle siRNA/miRNA 体外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。BioShuttle siRNA/miRNA 体外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。

产品特点

- 1.转染效率高
- 2.细胞类型广
- 3.细胞安全性高

操作步骤

1. 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.常用细胞培养装置中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
100 mm 培养皿	$(0.8-1) \times 10^6$	10

2. 准备 RNA-转染试剂复合物：

(转染配方比例如表 2 和表 3 所示。表 2：以 RNA 的最终浓度 1 nM，RNA 分子量为 14 kDa 为例；表 3：以 1 nM，RNA 分子量为 60 kDa 为例)。

1) 使用 W μ L DEPC 无菌水配置的 5%葡萄糖溶液，将 X μ g 的 RNA (DEPC 无菌水配置) 稀释至所需终浓度。

备注：根据细胞和目的基因的差异，RNA 所需终浓度可能在 1~50 nM 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 μ L 的 BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂。

备注：RNA 与 BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂的推荐使用比例为质量体积比 1:2 (w/v，1 μ g RNA 使用 2 μ L BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂进行转染)。

3) 充分混匀后室温静置 20 分钟。

3. 细胞转染：

1) 在形成复合物过程中，将步骤 1 准备好的细胞的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 2 准备好的 BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂与 RNA 复合物。

3) 37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 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 (μL): 加入转染 试剂的体积	W (μL): 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	2.8 ng (0.2 pmol)	5.6×10^{-3}	40	0.16
24 孔板	0.5	7.0 ng (0.5 pmol)	1.4×10^{-2}	100	0.4
12 孔板	1	14 ng (1 pmol)	2.8×10^{-2}	200	0.8
6 孔板	2	28 ng (2 pmol)	5.6×10^{-2}	200	1.8
100 mm 培养皿	10	140 ng (10 pmol)	0.28	500	9.5

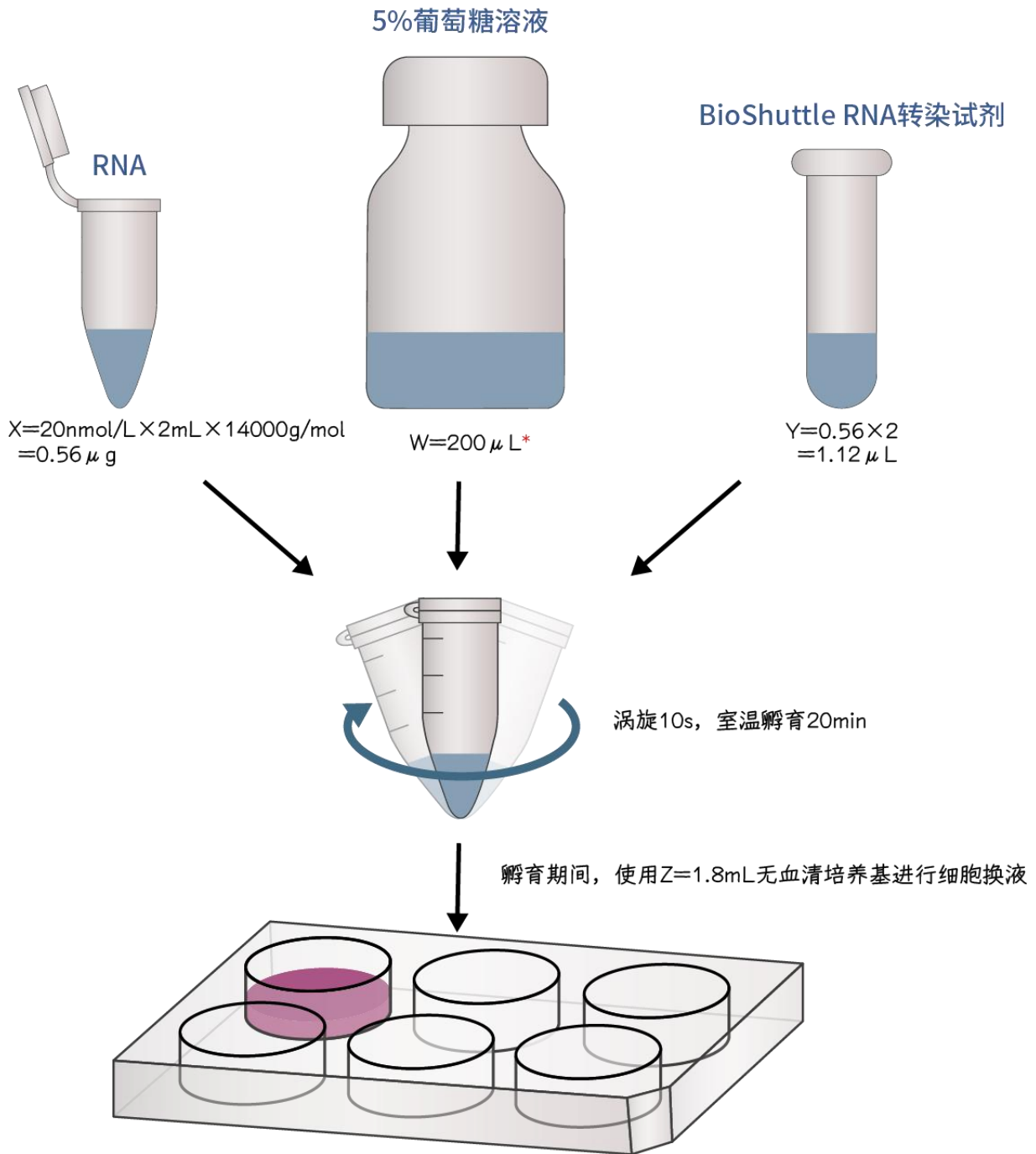
注: 表中配比为 RNA 终浓度为 1nM 时, 1 孔中细胞转染所需的量, 使用时请依据不同 RNA 终浓度进行相应倍比调整

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 1 nM 为例	Y (μL): 加入转染 试剂的体积	W (μL): 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	12 ng (0.2 pmol)	2.4×10^{-2}	40	0.16
24 孔板	0.5	30 ng (0.5 pmol)	0.06	100	0.4
12 孔板	1	60 ng (1 pmol)	0.12	200	0.8
6 孔板	2	120 ng (2 pmol)	0.24	200	1.8
100 mm 培养皿	10	600 ng (10 pmol)	1.2	500	9.5

注: 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

图. 操作流程简图



*备注:

1. 以6孔板, 每孔培养液终体积2mL, RNA终浓度20nM, RNA分子量14kD, X:Y=1:2(w/v)为例。
2. 为保证RNA终浓度相对准确, 若需加入的RNA或转染试剂体积较大, W体积应为最终定容的总体积。

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 也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，如下（4）中推荐的稀释液；
- (3) RNA 与转染试剂复合物应现配现用；配置后的 RNA 与转染试剂复合物应于 1 小时内用于细胞转染；
- (4) 体外细胞转染时血清的影响：高浓度血清的存在会影响 BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂与 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）；BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂试剂可用该稀释液稀释，稀释后的 BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂试剂置于 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 BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂的配比，推荐优化比例范围为 1:2~1:8（w/v, RNA: BioShuttle siRNA/miRNA 体外转染试剂）；
- (7) 本产品仅用于科学研究，不用于临床诊断和治疗。