RNA 转染试剂

R-100 RNA Transfection Reagent

产品描述：

侬碧艾的 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 等小片断 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 0.67ug(50pmol)的 siRNA，充分混匀，制成终体积为 25μl 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 24ul 无血清稀释液和 1ul 的 R100，充分混匀，制成终体积为 25μl 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 50μl 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(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。

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	100μl	10μl	0.15μg	0.25μl	0.25μg	0.375μl
48-well	200μl	15μl	0.3μg	0.5μl	0.5μg	0.75μl
24-well	500μl	25μl	0.67μg	1μl	1μg	1.5μl
12-well	1ml	25μl	1.33μg	2μl	2μg	3μl
6-well/35mm	2.5ml	50μl	3.33μg	5μl	5μg	7.5μl
60mm/T25flask	5ml	125μl	6.67μg	10μl	10μg	15μl
100mm/T75flask	15ml	250μl	20μg	30μl	30μg	45μl

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，若身体不适应立即前往医院治疗。

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。