

# Celthy siRNA/miRNA In vitro transfection reagent

## Celthy siRNA/miRNA 体外转染试剂

### 产品简介

Celthy siRNA/miRNA 体外转染试剂可对广泛的细胞系中提供优异的高转染效率,适用于 siRNA/miRNA 介绍的基因研究。该转染试剂是专效的 PEI 阳离子、两性分子转染试剂,可与 siRNA/miRNA 形成阳离子复合物,并通过内吞作用进入细胞,再通过胞内质子交换作用,使得复合体释放外源 siRNA/miRNA 进入细胞质。本产品具有如下特点:

适用于 siRNA 和 miRNA 的转染;

能实现 1 nM 的 siRNA 超过 90% 的表达效率,避免了脱靶效应;

适用于多种细胞转染,包括 HeLa、MCF-7、HepG2、CHO 等贴壁细胞;

适用于难以转染的悬浮细胞系(如:K562 或 THP-1 细胞),可达到 80% 的沉默效率;

适用于部分原代细胞(如:原代人成纤维细胞、原代人肝细胞等),可达到 80% 的沉默效率。

### 产品规格

货号	C130004S/C130004M
规格	0.5 mL/1 mL

### 储存条件

2~8°C 储存,有效期 1 年。禁止冷冻!

### 注意事项

1. 实验过程中,请使用无 RNA 酶和无热原性的材料,如离心管、枪头、缓冲液。
2. 转染前,请确认 siRNA/miRNA 是经过 PAGE 纯化和脱盐处理。
3. 试剂应在 2-8°C 保存,请注意避免多次反复长时间开盖,否则可能会导致 PEI 挥发,降低转染效率。
4. 转染前 1 天,请确认接种贴壁细胞密度在 30%-50% 左右,对于一些小细胞和生长缓慢的细胞,接种密度可适当扩大 2 倍。
5. 转染前,请确认 siRNA/miRNA 基因沉默表达不会影响细胞活力。
6. 该产品只适合体外转染,不能用于体内转染。
7. 本产品仅作科研用途!

### 使用说明

#### 1. 贴壁细胞转染(以 24 孔板为例)

**【注意】**转染前 1 天,请确认接种贴壁细胞密度在 30%-50% 左右,对于一些小细胞和生长缓慢的细胞,接种密度可适当扩大 2 倍。

### 1.1 配制 siRNA-PEI 或 miRNA-PEI 核酸转染试剂阳离子复合物

- 1) 对于每孔细胞, 使用 100  $\mu\text{L}$  无血清培养基 (如 OPTI-MEM 培养基) 稀释 30 pmoles siRNA/miRNA, 混匀。
- 2) 立刻向 100  $\mu\text{L}$  的 siRNA/miRNA 中加入 2-4  $\mu\text{L}$  的转染试剂, 旋涡 10 秒, 充分混匀。
- 3) 在室温下孵育 10 min, 使得形成 siRNA-PEI 或 miRNA-PEI 阳离子核酸转染试剂复合物。【注】: 孵育时间不要超过 30min

### 1.2 转染操作

- 1) 在形成复合物过程中, 移除细胞生长培养基, 每孔中加入 500  $\mu\text{L}$  新鲜预热的完全培养基。
- 2) 直接将 100  $\mu\text{L}$  siRNA-PEI 或 miRNA-PEI 阳离子核酸转染试剂复合物加入细胞中, 摇动培养板, 轻轻混匀。最终体积为 600  $\mu\text{L}$ , siRNA/miRNA 终浓度为 50 nM。
- 3) 37 $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养, 直至目的基因表达。建议一般 siRNA/miRNA 表达水平通常在 24-72 h, 蛋白表达水平在 48-96 h。

表 siRNA/miRNA 终浓度为 50 nM 时, 转染试剂、培养基的用量参考 (贴壁细胞)

培养皿	每孔培养基体积	稀释用无血清培养基	siRNA/miRNA 物质的量(pmoles)	转染试剂体积 ( $\mu\text{L}$ )	加入复合物后培养基总体积
96 孔板	125 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	8.75	0.5-1.5	175 $\mu\text{L}$
24 孔板	500 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	30	2-4	600 $\mu\text{L}$
12 孔板	1 mL	200 $\mu\text{L}$	60	4-8	1.2 mL
6 孔板	2 mL	200 $\mu\text{L}$	110	8-16	2.2 mL
25cm <sup>2</sup> 培养瓶	4 mL	400 $\mu\text{L}$	220	15-25	4.4 mL

【注】: 贴壁细胞培养密度与各细胞倍增时间有关, 确保细胞转染时细胞密度在 60-80%即可。

## 2. 悬浮细胞转染 (以 24 孔板为例)

### 2.1 细胞接种

- 1) 为了优化悬浮细胞转染条件, 与贴壁细胞相比, 需要降低悬浮细胞培养基的体积。根据培养皿大小和完整培养基的体积, 推荐接种悬浮细胞的数量如下表所示。

表 siRNA/miRNA 终浓度为 50 nM 时, 转染试剂、培养基的用量参考 (悬浮细胞)

培养皿	siRNA/miRNA 物质的量 (pmoles)	转染试剂体积 ( $\mu\text{L}$ )	转染当天接种细胞数	形成复合物培养基体积	转染前悬浮细胞的体积	转染 4-6h 后另加入培养基的体积
96 孔板	5	0.5-1.5	$1 \sim 2 \times 10^4$	50 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$
24 孔板	15	2-4	$1 \sim 2 \times 10^5$	100 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$	700 $\mu\text{L}$
12 孔板	35	4-8	$2 \sim 4 \times 10^5$	200 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$	1 mL
6 孔板	60	8-16	$0.5 \sim 2 \times 10^6$	200 $\mu\text{L}$	1 mL	2 mL
25cm <sup>2</sup> 培养瓶	120	15-25	$2 \sim 5 \times 10^6$	400 $\mu\text{L}$	2 mL	4 mL

## 2.2 配制 siRNA-PEI 或 miRNA-PEI 核酸转染试剂阳离子复合物

- 1) 对于每孔细胞，使用 100  $\mu\text{L}$  无血清培养基（如 OPTI-MEM 培养基）稀释 15 pmols siRNA/miRNA，混匀。
- 2) 向 100  $\mu\text{L}$  的 siRNA/miRNA 中加入 2-4  $\mu\text{L}$  的转染试剂，立刻旋涡 10 秒，充分混匀。
- 3) 在室温孵育 15 min，使得形成 siRNA-PEI 或 miRNA-PEI 阳离子核酸转染试剂复合物。【注】：孵育时间不要超过 30 min

## 2.3 转染操作

- 1) 在每孔 200  $\mu\text{L}$  细胞悬浮液中，加入 100  $\mu\text{L}$  的 siRNA-PEI 或 miRNA-PEI 阳离子核酸转染试剂复合物，轻轻混匀。最终体积为 300  $\mu\text{L}$ ，siRNA 终浓度为 50 nM。
- 2) 37 $^{\circ}\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 4-6 h 后，再加入 700  $\mu\text{L}$  完全培养基，轻轻摇动培养板使其混匀。
- 3) 继续放入培养箱中孵育，直至目的基因表达。建议一般 siRNA/miRNA 表达水平通常在 24-72 h，蛋白表达水平在 48-96 h。

**【注】**：为了优化内源性基因沉默，siRNA 浓度需要做梯度摸索。转染试剂的体积应根据 siRNA 浓度和培养皿的大小进行调整。