

## siRNA Transfection Reagent siRNA 转染试剂

Cat. No. YJ0871

保存: 2-8℃

### 组分说明

Catalog no.	YJ0871	YJ0871A
Kit Size	0.5 ml	1 ml
siRNA Transfection Reagent	0.5 ml	1 ml

### 产品简介

siRNAfect 是一种高效的阳离子脂质体转染试剂。适用于多种细胞的 siRNA 转染，其原理为带正电的脂质体通过静电作用结合到 RNA 的磷酸骨架上形成转染复合物，将转染复合物加到细胞上可以与带负电的细胞膜表面结合即可通过胞吞作用将 siRNA 导入细胞中。主要应用于 RNAi 研究，基因表达和基因功能研究等。

### 注意事项

1. 转染试剂使用前请先震荡摇匀。
2. 转染效率与细胞密度有很大关系，不同实验间应保持一个基本的传代步骤，且应确保转染时细胞没有长满或处于静止期。一般贴壁细胞转染的最佳细胞密度是70-90%，悬浮细胞的最佳细胞密度为 $2-4 \times 10^6$  细胞/ml，用于转染的最佳细

胞密度根据不同的细胞类型或用途而异。

## 使用方法

以下操作步骤以12孔板为例，其他孔板按照表1中所列用量进行实验。

1. 在12孔板的每孔中加入1 ml正常生长培养基（根据需要可加入适量的血清），接种 $1-3 \times 10^6$  细胞。在37°C条件下培养细胞浓度至70-90%。根据细胞类型的不同，这一过程通常需要18-24小时不等。由于转染效率对培养条件及其敏感性，所以应在不同的实验间建立一个标准的传代流程。

2. 将20 pmol iRNA溶于终体积为50  $\mu$ l的无血清，无抗生素的培养基中，涡旋5秒或者用枪尽量吹打均匀。

3. 将2.6  $\mu$ l转染试剂稀释到终体积为50  $\mu$ l的无血清，无抗生素的培养基中，涡旋10秒。

注意：溶解过程中可能会出现白色混浊，但不影响转染效率。

4. 将稀释好的转染试剂加入到核酸溶液中（注意顺序一定不能颠倒），涡旋1秒，室温孵育15分钟，使转染试剂与核酸形成稳定的复合物（此步骤尽量不要超过20分钟，否则会影响转染效率）。

5. 向稳定复合物中加入900  $\mu$ l带血清的培养基，用枪轻轻吹打均匀。

6. 吸去培养板中原有的培养基，加入步骤5中混合好的培养基。在37°C条件下培养细胞24-72小时。

7. 根据细胞类型和启动子活性不同，在转染后24-72小时分析细胞抽提物，检测报告基因活性。

对于稳定表达的细胞系，在转染72小时后，按1: 10的比例在细胞中加入选择培养基对已转染的报告基因进行筛选。

8.

表1： 对不同大小的细胞培养皿，试剂的用量

培养板	每孔 表面积	铺板用培养基 体积	siRNA (pmol) 和 稀释终体积 ( $\mu$ l)	siRNA转染试剂 ( $\mu$ l) 和 稀释终体积 ( $\mu$ l)
96孔	0.3	100 $\mu$ l	3 pmol至10 $\mu$ l	0.4 $\mu$ l至10 $\mu$ l
24孔	2	500 $\mu$ l	10 pmol至20 $\mu$ l	1.3 $\mu$ l至20 $\mu$ l
12孔	4	1 ml	20 pmol至50 $\mu$ l	2.6 $\mu$ l至50 $\mu$ l
35 mm	10	2 ml	50 pmol至100 $\mu$ l	6.6 $\mu$ l至100 $\mu$ l
6孔	10	2 ml	50 pmol至100 $\mu$ l	6.6 $\mu$ l至100 $\mu$ l
60 mm	20	5 ml	100 pmol至200 $\mu$ l	13.3 $\mu$ l至200 $\mu$ l
10 cm	60	15 ml	300 pmol至500 $\mu$ l	40 $\mu$ l至500 $\mu$ l