

YobibioTrans R-100 RNA Transfection Reagent

使用说明书

产品介绍

YobibioTrans 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，本品推荐用于将 siRNA、microRNA(miRNA)、mimic、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）。本品可以常温运输，本品在多种细胞系的验证中均表现了很好的 RNA 转染效率，并有很低的细胞毒性。

特点

- 超高的转染效率，且所需 RNAi 浓度低，基因抑制效果更好，非特异性效应极少
- 针对 miRNA 拮抗剂和模拟物具有出色的转染效率
- 细胞毒性低、易于优化
- 可用于多种细胞类型
- 简单、高通量的即用型转染

规格包装:

(备注：以下为常用规格，更多规格可根据客户需求定制)

货号	产品名称		规格
U31-661A	YoBIBIOTrans R-100 RNA Transfection Reagent	YOBIBIORNA 转染试剂	1.5ml
U31-662A	YoBIBIOTrans R-100 RNA Transfection Reagent	YOBIBIO RNA 转染试剂	0.75ml

储存事项

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，长时间储存于 4℃，切勿冻存，有效期 24 个月。

重要提示

产品用于：仅供研究使用，不适用于人或动物的体外诊断与治疗。

由于实验受多种因素影响具有不确定性，本说明书操作说明仅供参考，最终解释权归本公司所有。

警告！产品对人体危害性未知，请遵循操作说明。穿戴适当的防护眼镜、衣服和手套！如果不小心接触，应立即用大量的水冲洗，如引起身体不适前往医院治疗。

注意事项

- 整个实验过程避免细胞污染由于不同细胞耐受性不同，由于不同细胞耐受性不同，我们建议您在做批量实验前，可根据实际质粒和细胞的转染效率，分不同梯度量先做预实验，摸索最佳 siRNA 和 YosiTrans R-100 的混合比例。优化后可根据自身细胞情况具体用量。
- 采用本品进行转染，RNA 用质量(ug)进行计量，对 21nt 双链的 siRNA 来说，1OD=3.0nmol=40ug。
- siRNA 等较短 RNA 请参照表 1 中 siRNA 用量，mRNA、shRNA 等较长 RNA 请参照表 1 中 mRNA 用量。
- 如转染后需要用 Trizol 提取 RNA，建议转染后 6 小时换液。

操作步骤

(不同的细胞已及转不同面积的孔板操作起来略有不同，以 24 孔板 siRNA 转染为例)

1. 提前一天细胞种植

贴壁细胞：提前一天将细胞种植在 24 孔板中，以转染时细胞汇合度在 30% 左右为宜，转染前全培养基总量为 0.45ml。

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 1/3 进行转染实验。

2. 转染过程

(1) 取 0.67ug(50pmol) 的 siRNA，加入无血清稀释液，充分混匀，制成 RNA 稀释液，终体积为 25μl。

注意：无血清稀释液建议采用 OPTI-MEM、无血清 DMEM 或 1640。

(2) 取 1ul 的 R100，然后加入 24ul 无血清稀释液，充分混匀，制成 R100 稀释液，终体积为 25μl。室温静置 5 分钟。

(3) 将 R100 稀释液和 RNA 稀释液充分混合（可用振荡器振荡或用加样器吹吸 10 次以上）混合，室温静置 15 分钟。转染复合物制备完成。

(4) 将 50μl 转染复合物滴加到有 0.45ml 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。

注意：

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。mRNA 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，转染后镜下培养基中可能出现少量黑点状沉淀，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。

不同细胞培养容器转染推荐用量

细胞培养容器	表面积 (cm ²)	共享试剂		siRNA 等较短 RNA		mRNA, shRNA 等较长 RNA	
		培养基 总量	稀释液 体积	siRNA 用量	R-100	mRNA 用量	R-100
96-well	0.3	100μl	10μl	0.15μg	0.25μl	0.25μg	0.375μl
48-well	0.7	200μl	15μl	0.3μg	0.5μl	0.5μg	0.75μl
24-well	1.9	500μl	25μl	0.67μg	1μl	1μg	1.5μl
12-well	3.8	1ml	25μl	1.33μg	2μl	2μg	3μl
6-well/35-mm	10	2.5ml	50μl	3.33μg	5μl	5μg	7.5μl
60 mm/T25 flask	21	5ml	125μl	6.67μg	10μl	10μg	15μl
100 mm/T75 flask	58	15ml	250μl	20.0μg	30μl	30μg	45μl

4. 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。下表列出了在 24well 的优化方案，供参考。

RNA 浓度和转染试剂量的优化(24well)

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

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。