

## CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂高阶使用说明书

### 产品描述

CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂是一种独有的非强正电性、脂质为基础的 RNAi 转染试剂，适合将 siRNA/miRNA 高效输送到细胞质中，转染细胞类型广泛，转染效果优于国际主流的 siRNA 转染试剂。

### 特点

- ✦ 超高的转染效率
- ✦ 针对 10 种常规细胞，转染效率显著优于行业最优的转染试剂产品；针对难转染细胞，转染效率显著优于行业最优的转染试剂产品
- ✦ 低细胞毒性
- ✦ 简单快速的使用

### 运输与保存方法

常温运输。产品 4 °C 保存，一年有效。

### 注意事项

- 1) 整个实验过程使用无 RNA 酶和无热原性的材料，如离心管、枪头、水、培养液。
- 2) 转染前，确保 siRNA 是经过 PAGE 纯化和脱盐处理过的，高纯度的 siRNA 或者 miRNA 有助于获得较高的转染效率。
- 3) 细胞密度在 70-90%转染，可实现最佳转染效果。
- 4) 转染前，确保 siRNA/miRNA 基因沉默表达不会影响细胞活力。

### 转染操作流程

1. 接种细胞：建议提前一天接种细胞，接种数量参考下方推荐量。
2. 药液配制：
  - 2.1 siRNA 溶液配制：siRNA 以水稀释至 140 µg/mL
  - 2.2 siRNA-转染复合液：取无菌离心管，加入 2µL siRNA 溶液，加入 CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂 A 液 14 µL，吹打混匀，加入 CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂 B 液 4 µL，混合均匀，室温放置 5min，加培养液 180 µL，吹打混匀，即可使用。
3. 细胞加药：按下方推荐量将配制好的药液加入各细胞孔中，摇动培养板，轻轻混匀。
4. 细胞培养：37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养，直至发挥干扰作用。建议 24-48 h 测定 mRNA 水平、48-72 h 测定蛋白水平。

表 1. siRNA 样品加入示例

	96 孔板	24 孔板	6 孔板
接种细胞数	1-4 万	5-20 万	25-100 万
接种用培养液	0.1 mL	0.5 mL	2 mL
siRNA-转染复合液	10 µL	50 µL	250 µL
含 siRNA	14 ng	70 ng	350 ng

注：

① siRNA 浓度达不到 140  $\mu\text{g}/\text{ml}$  时，可以将 siRNA 以水稀释成 70  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，对应将“步骤 2.2”中 siRNA 溶液加入体积改为 4  $\mu\text{L}$ ，CALNP™ siRNA in vitro 转染试剂 A 液 12  $\mu\text{L}$ ，其他不变。

② “步骤 2.1”中，siRNA 溶液 140  $\mu\text{g}/\text{ml}$  约为 siRNA 溶液 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ，若 siRNA 浓度约为 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ，可按照“步骤 2.2”直接使用。

③ 若希望增大或降低给药浓度，可是通过修改“步骤 2.2”中培养液的体积来实现浓度调整。

④ 若希望增大增加 siRNA-转染复合液体积，等比例增大“步骤 2.2”siRNA 溶液、CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂 A 液、CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂 B 液和培养液的体积。

⑤ 可尝试通过增加 CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂 A 液和 B 液的用量用来提高转染效果