

# CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂说明书

### ▲ 物料准备

siRNA 溶液 (20 μM);

细胞培养液、无菌离心管、移液器及吸头。

### ▲ 运输与保存方法

常温运输。2~8℃ 保存, 一年有效。

# ▲ 注意事项

- 特别注意,务必按下图顺序加样配液,严禁将 siRNA 或转染试剂与培养液先混合。 1.
- 本品兼容血清双抗,配液采用完全或基础培养液均可,无需 Opti-MEM 等特殊培养液。
- 加入 siRNA 转染复合液后 24h 内不要换液。如需进行更长时间培养,可在加入 siRNA 转染 复合液 24h 后,更换为新鲜培养液,以保证细胞生长所需营养成分。
- 4. 本品可转染 miRNA mimic、inhibitor 及 ASO 等,可根据分子量调整至与 20 μM siRNA 溶 液的质量浓度一致即可。

### ዹ 操作流程

1. 接种细胞

建议提前一天接种细胞,接种数量参考表2。

2. siRNA 转染复合液配制

Reagent A 和 Reagent B 提前恢复至室温,涡旋。

严格按下图顺序混合配制 siRNA 转染复合液。

第②步 第3步 第4步 第5步 加入siRNA溶液 加入Reagent A,混匀 加入Reagent B,混匀 室温孵育5min 加入细胞培养液,混匀 即得siRNA转染复合液



表 1. siRNA 转染复合液配制 (200 μL 为例)

	siRNA 溶液(20 μM)	Reagent A	Reagent B	细胞培养液
siRNA 转染复合液(500 nM)	5.0 μL	35.0 μL	10.0 μL	150 μL
siRNA 转染复合液(100 nM)	1.0 μL	7.0 μL	2.0 μL	190 μL

注: siRNA 转染复合液中 siRNA 浓度不变的情况下,如需使用其它体积,等比例调整四种溶液的体积即可。

如需其它浓度 siRNA 转染复合液、维持 siRNA 溶液: A: B 体积比不变、改变细胞培养液体积即可。

#### 细胞加药

按表 2 推荐量将配制好的 siRNA 转染复合液加入各细胞孔中,摇动培养板,轻轻混匀。

#### 4. 细胞培养

37 ℃, 5% CO2 培养箱培养直至发挥干扰作用。建议 24h 测定 mRNA、48 h 测定蛋白水平。 表 2. siRNA 样品加入示例

	接种细胞数	接种细胞时培养液	siRNA 转染复合液加入量
96 孔板	0.5~2 万	0.1 mL	10 μL
48 孔板	2.5~10 万	0.25 mL	25 μL
24 孔板	5~20万	0.5 mL	50 μL
12 孔板	10~50 万	1.0 mL	100 μL
6 孔板	25~100万	2.0 mL	200 μL

注: 按表 2 加入 siRNA 转染复合液,各孔 siRNA 终浓度为 siRNA 转染复合液浓度的 1/10。











