

HepG2 细胞

1. 实验名称

CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂的转染效率结果

2. 实验仪器

细胞培养箱
倒置显微镜
超净工作台
高速离心机
荧光定量 PCR 仪

3. 实验试剂

HepG2 细胞培养液
双抗
胰酶
PBS
RNA 提取试剂盒
荧光定量 PCR 检测试剂盒
CALNP™ RNAi in vitro 转染试剂
siRNA-GAPDH

GAPDH	sense	GUA UGA CAA CAG CCU CAA GTT
	antisense	CUU GAG GCU GUU GUC AUA CTT

Human-GAPDH 引物
Human-β-actin 引物

4. 实验过程

3.1. 细胞培养

采用 HepG2 细胞培养液，1%(v/v)双抗，5% CO₂，37 °C 恒温培养箱。细胞长到 90%，传代，将培养液弃掉，加入 PBS 洗一遍，加入胰酶，消化 5 分钟，吹打下来转移至 EP 管中，加入 1ml 培养液，离心，1000g/min，离心 5 分钟，弃掉上清，加入 1ml 培养液，吹打混合均匀，按照 1/3 传代。

3.2. 种板

按照每孔 0.5ml，10 万细胞/孔种于 24 孔板中，37°C 条件下培养 24h 后，细胞达到约 70% 满

3.3. siRNA-转染复合液配制

siRNA 溶液配制：siRNA 以水稀释至 140 μg/mL

siRNA-转染复合液-70ng/孔：取无菌离心管，加入 2 μL 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，吹打均匀，室温孵育 5 min，加细胞培养液 180 μL，吹打混匀。

siRNA-转染复合液-14ng/孔：取 siRNA-转染复合液-70ng/孔 50μL，置于无菌离心管中，加细胞培养液 200 μL，吹打混匀。

3.4. 加药

取配制好的 siRNA-转染复合液 50 μ L 加入各细胞孔中，摇动培养板，轻轻混匀。

3.5. 收细胞

37 $^{\circ}$ C 条件下培养 24h 后，吸尽培养液，加 0.5ml 胰酶消化，全部转移至 1.5ml 离心管中，1000g/min，离心 5min，吸尽胰酶，加 0.5ml 细胞培养液，离心 5min，吸尽细胞培养液，加入 0.5ml PBS。

3.6. RNA 提取

按照 RNA 提取试剂盒进行 RNA 提取

3.7. mRNA 水平检测

按照荧光定量 PCR 检测试剂盒进行检测

5. 实验结果

