



AccuFect RNAi 转染试剂

Version 2

AccuFect RNAi Transfection Kit

Code No.AG51017

包装量:	50孔 (6孔板)
保存温度:	4°C

产品概述

本产品是一种高效 RNAi 转染试剂, 适合将 siRNA 高效输送到细胞质中, 具有超高转染效率和细胞存活率, 允许在低摄取量下即达到高效的靶基因敲低水平, 转染细胞类型广泛, 转染效果优异。

产品组成

<i>AccuFect</i> Reagent A	0.5 ml
<i>AccuFect</i> Reagent B	0.1 ml

保存及运输

保存温度: 4°C 保存 (避免冻结)

运输温度: 室温运输

注意事项

1. 试剂保存在 4°C, 避免冻结而影响产品性能。
2. 务必按照说明书 siRNA 转染复合液配制顺序加样配液, 严禁将 siRNA 或转染试剂与培养液先混合。
3. 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。
4. 加入 siRNA 转染复合液后 24 h 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 24 h 后, 更换为新鲜培养液, 以保证细胞生长所需营养成分。
5. 本品也可用于转染 miRNA mimic、inhibitor 及 ASO 等, 建议将这些核酸的储备液浓度调整至与 siRNA 储备液相同的摩尔浓度 (例如 20 μM), 然后按照本说明书的体积比例进行转染。
6. siRNA 的稀释, 建议用 RNase free water 稀释, 不建议使用 TE buffer 或者带有离子的溶液, 避免引入其他离子影响转染效率。

产品特点

1. 超高转染效率: 对于原代细胞、巨噬细胞等难转染的细胞都有较高的转染效率。
2. 超低毒性: 精心优化设计的试剂配比, 最大程度减少细胞损伤。
3. 广谱性强: 适用于近百种细胞, 具体见附录。

试剂准备

siRNA 溶液 (20 μM)、RNase free water、细胞培养液、无菌离心管、移液器及吸头等。

实验操作

1. 接种细胞:

建议前一天接种细胞, 接种数量参考表 2。

2. siRNA 转染复合液配制:

- AccuFect* Reagent A 和 *AccuFect* Reagent B 提前恢复至室温, 涡旋混匀。
- 严格按照下图顺序混合配制 siRNA 转染复合液, siRNA 的浓度用量, 参考下表 1。

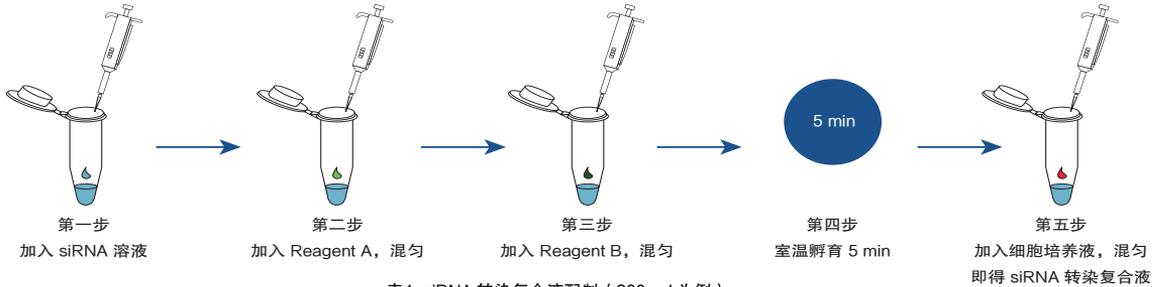


表1. siRNA 转染复合液配制 (200 μ l 为例)

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

注: 一般推荐使用 100 nM-500 nM 的 siRNA 转染复合液浓度进行转染, 可根据实际效果调整转染复合液的浓度。上表推荐的是 200 μ l 转染复合液的配制方法, 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 1 : 7 : 2 不变, 并根据所需总体积调整细胞培养液的体积。

3. 加转染试剂复合液:

按下表 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。

表 2. 不同孔板细胞加入 siRNA 复合液体积表

	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 μ l
48 孔板	2.5~10 万	0.25 ml	25 μ l
24 孔板	5~20 万	0.5 ml	50 μ l
12 孔板	10~50 万	1.0 ml	100 μ l
6 孔板	25~100 万	2.0 ml	200 μ l

注: 按表 2 加入 siRNA 转染复合液, 各孔 siRNA 终浓度约为 siRNA 转染复合液浓度的 1/11。

4. 细胞培养:

37°C, 5% CO₂ 培养箱培养直至发挥干扰作用。建议 24 h 测定 mRNA、48 h 测定蛋白水平。

附录: 适用细胞类型

原代小胶质细胞、BV-2、SH-SY5Y、HT22、人脂肪干细胞、BMDM、RAW264.7、THP-1、间充质干细胞、软骨细胞、Jurkat T、HUVEC、原代大 / 小鼠心肌细胞、原代皮肤成纤维细胞、原代血管内皮细胞、原代血管成纤维细胞、原代肝细胞、原代软骨细胞、HTR8、DPSC、Hacat、MO3.13、hTERT-RPE1、MDA-MB-231、ZR75-1、A2780(DDP)、SK-OV-3、H1299、A549、NCI-H460、PC-9、H1975、BXPC3、SNU387、HCT116、CT26、Hepa1-6、MH-S、PMDM、mIE-12、N2A、L929 等。