

EndoFectin™ RNAi 转染试剂

高效转染 RNAi 到哺乳动物细胞

产品编号: EF021 / EF022

包装规格: 1 mL / 3 mL

储存条件: 4℃~8℃密闭保存, 可保持稳定至少 12 个月, 常温运输。

■ 产品概述

EndoFectin™ RNAi 转染试剂是以脂质体转染为原理的转染试剂, 专为将 siRNA 和 miRNA 递送至哺乳动物细胞而设计, 它能与核酸形成复合物, 并使该复合物进入细胞。**EndoFectin™ RNAi** 转染试剂广泛适用于常见细胞系, 如 HEK-293、HEK293T、Hela、NIH/3T3 和 A549 等。即使在有血清存在的情况下, 该试剂仍能高效将核酸导入细胞。

GeneCopoeia 公司提供的 **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂具有如下优点:

- 转染效率更优良
- 细胞毒性低
- 适用于多种细胞系的转染操作, 操作简便
- 与含血清的培养基相兼容, 转染前不需去除细胞培养液或血清, 转染后不需清洗细胞

■ 注意事项

使用 HPLC 纯化的 siRNA: 请使用高质量的转染级 siRNA 或 miRNA mimics, 按照 siRNA 的说明书建议把其放置于合适温度储存 (一般为 -20℃ 或 -80℃), 可根据实验需要分装成小份体积避免反复冻融。

保证细胞状态: 请使用适当保存和经常传代的健康细胞, 并确保培养基无细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞, 请在转染前至少传代 2 次。

■ 实验材料

- **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂、siRNA 或 miRNA
- 无蛋白细胞培养液 (如 Opti-MEM I™, 来自 Life Technologies. 货号: 31985-088)
- 培养至 50% 汇合度的目的细胞

■ 条件摸索

在进行正式转染前, 推荐以 **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂摸索目的细胞的最佳转染条件。可参考表 1 (RNAi 转染) 和表 2 (RNAi 和 DNA 共转) 的设置, 进行多个梯度的初步摸索。

您可在细胞培养板进行操作、或直接在 96 孔培养板中进行操作。获最佳转染条件后, 可按比例放大转染试剂用量。

培养耗材	培养基	推荐用量 mimics/siRNA	适用范围 mimics/siRNA	稀释体积 mimics/siRNA/ RNAi 转染试剂	推荐用量 RNAi 转染试剂	适用范围 RNAi 转染试剂
96-well plate (one well)	100 μ L	1 pmol	0.5-4 pmol	5 μ L	0.4 μ L	0.2-0.8 μ L
24-well plate (one well)	0.5 mL	5 pmol	2.5-20 pmol	25 μ L	2 μ L	1-4 μ L
12-well plate (one well)	1.0 mL	10 pmol	5-40 pmol	50 μ L	4 μ L	2-8 μ L
6-well plate (one well)	2.0 mL	25 pmol	12.5-100 pmol	125 μ L	10 μ L	5-20 μ L
3.5-cm dish	2.0 mL	25 pmol	12.5-100 pmol	125 μ L	10 μ L	5-20 μ L
6-cm dish	5.0 mL	75 pmol	37.5-300 pmol	375 μ L	30 μ L	15-60 μ L

表 1. RNAi 转染贴壁细胞的建议初始条件

培养耗材	培养基	推荐用量 DNA	推荐用量 mimics/siRNA	适用范围 mimics/siRNA	稀释体积	推荐用量 RNAi 转染试剂	适用范围 RNAi 转染试剂
96-well plate (one well)	100 μ L	0.1 μ g	5 pmol	2.5-10 pmol	5 μ L	0.6 μ L	0.4-1 μ L
24-well plate (one well)	0.5 mL	0.5 μ g	25 pmol	12.5-50 pmol	25 μ L	3 μ L	2-5 μ L
12-well plate (one well)	1.0 mL	1 μ g	50 pmol	25-100 pmol	50 μ L	6 μ L	4-10 μ L
6-well plate (one well)	2.0 mL	2.5 μ g	125 pmol	50-250 pmol	125 μ L	15 μ L	10-25 μ L
3.5-cm dish	2.0 mL	2.5 μ g	125 pmol	50-250 pmol	125 μ L	15 μ L	10-25 μ L
6-cm dish	5.0 mL	7.5 μ g	375 pmol	150-750 pmol	375 μ L	45 μ L	30-75 μ L

表 2. RNAi 和 DNA 共转染贴壁细胞的建议初始条件

■ RNAi 转染方法

1. 目的细胞铺板培养:

转染前一天用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度，铺板培养；第二天进行转染操作时，一般细胞的最佳汇合度是 50%。

注意：该步骤若使用含抗生素的细胞培养液，转染前 0.5 小时请更换为预热的不含抗生素的细胞培养基。

2. 制作 RNAi-EndoFectin™ 复合物:

A. 从冰箱取出 RNAi、EndoFectin™ RNAi 转染试剂、无蛋白培养液（如 Opti-MEM I™）静置，使其温度恢复至室温。参考表 1，以无蛋白培养液分别稀释 RNAi、稀释 EndoFectin™ RNAi 转染试剂，室温静置 5 分钟。（稀释后的 RNAi 和 EndoFectin™ RNAi 转染试剂溶液体积比为 1:1）

（举例：如需使用 6 孔板进行 siRNA 转染，转染 1 个培养孔，取 12.5-100 pmol siRNA 稀释至 125 μ L，室温静

置 5 分钟；取 5-20 μL **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂稀释至 125 μL ，室温静置 5 分钟。

B. 5 分钟后，轻柔地将稀释的 RNAi 混匀于稀释的 **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂（注意：**EndoFectin™ RNAi** 试剂在进行稀释后，需在 30 分钟内与 RNAi 稀释液混匀）。室温静置 15-20 分钟，使 **EndoFectin™** 复合物充分形成。

3. 转染目的细胞：

向培养板孔/培养皿中逐滴添加 **EndoFectin™** 复合物，在滴加过程中轻柔晃动培养板/培养皿，使转染试剂均匀扩散。应避免将转染试剂重复滴加在同一位置（易使局部转染试剂浓度过高）。

4. 孵育细胞并检测分析：

在 5% CO_2 培养箱中以 37℃ 孵育细胞，24-72 小时后即可进行分析检测。由于不同目的基因和目的细胞之间存在差异，可自行摸索并确定最适合的检测时间。

■ RNAi 和 DNA 质粒共转染方法

1. 目的细胞铺板培养：

转染前一天用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度，铺板培养；第二天进行转染操作时，一般细胞的最佳汇合度是 50%。

注意：该步骤若使用含抗生素的细胞培养液，转染前 0.5 小时请更换为预热的不含抗生素的细胞培养基。

2. 制作 **RNAi + DNA-EndoFectin™** 复合物：

A. 从冰箱取出 RNAi、DNA、**EndoFectin™ RNAi** 转染试剂、无蛋白培养液（如 Opti-MEM I™）静置，使其温度恢复至室温。参考表 2，以无蛋白培养液分别稀释 RNAi + DNA、稀释 **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂，室温静置 5 分钟。（稀释后的 RNAi + DNA 和 **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂溶液体积比为 1:1）

（举例：如需使用 6 孔板进行 miRNA mimics + DNA 转染，转染 1 个培养孔，可取 50-250 pmol miRNA mimics + 2.5 μg DNA 稀释至 125 μL ，室温静置 5 分钟；取 10-25 μL **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂稀释至 125 μL ，室温静置 5 分钟。

B. 5 分钟后，轻柔地将稀释的 RNAi + DNA 混匀于稀释的 **EndoFectin™ RNAi** 转染试剂（注意：**EndoFectin™ RNAi** 试剂在进行稀释后，需在 30 分钟内与 RNAi + DNA 稀释液混匀）。室温静置 15-20 分钟，使 **EndoFectin™** 复合物充分形成。

3. 转染目的细胞：

向培养板孔/培养皿中逐滴添加 **EndoFectin™** 复合物，在滴加过程中轻柔晃动培养板/培养皿，使转染试剂均匀扩散。应避免将转染试剂重复滴加在同一位置（易使局部转染试剂浓度过高）。

4. 孵育细胞并检测分析：

在 5% CO_2 培养箱中以 37℃ 孵育细胞，24-72 小时后即可进行分析检测。由于不同目的基因和目的细胞之间存在差异，可自行摸索并确定最适合的检测时间。

■ 特别提醒

1. 对部分接触抑制敏感的细胞，在步骤 1 可适当降低铺板密度，使转染时的细胞汇合度降低。
2. 血清的存在对转染过程无负面影响，即使在细胞培养基中含有蛋白（如 10% 的血清）的情况下，**RNAi-EndoFectin™** 复合物仍能顺利转染细胞。但是 **RNAi-EndoFectin™** 复合物必须在无蛋白的条件下形成。推荐使用无蛋白培养液 Opti-MEM I™ 培养基对 RNAi、**EndoFectin™ RNAi** 试剂进行稀释，以达到最佳转染效率。如使用其它无蛋白培养基则需自行测试验证与 **EndoFectin™ RNAi** 的兼容性。

■ 产品引用

如在文献中使用该产品，请采用描述：**EndoFectin™ RNAi Transfection Reagent (EF021; GeneCopoeia, Inc., Rockville, MD)**。

有限使用许可和保证

有限保证

GeneCopoeia 保证该产品（EndoFectin™ RNAi 转染试剂）符合产品手册上的说明。如果证明该产品与产品说明信息不符，购买方须将该产品在 5 个工作日内返还给 GeneCopoeia，而 GeneCopoeia 将免费替换该产品。如果不能提供替换产品，GeneCopoeia 将退款或 credit 给购买方。此保证仅限于产品的原始购买者，且不得延伸至原始购买者以外的使用者。GeneCopoeia 的责任仅限于替换，退款或 credit（指选择不退款，剩余款项用于后续购买产品的支付）该产品，且退款或 credit 只限于实际的购买价格但不包括寄送费用。GeneCopoeia 不对任何由于使用或不正确使用本公司产品造成的直接、间接的、衍生的或偶然的损失所产生的后果负责。GeneCopoeia 提供此唯一保证。GeneCopoeia 对于产品的适销性以及任何特定使用用途不再提供任何其他保证。

有限使用许可

购买方需同意接受以下有限使用许可条款。GeneCopoeia 的产品仅限于购买方内部研究使用，不可以任何方式转让给第三方；不可用于包括人类或诊断及治疗在内的其他用途。未经 GeneCopoeia 的书面批准，不得对此产品进行更改、重新包装、转售或用于制作商业化产品。此产品须按 NIH 指南用于 DNA 重组和基因研究。对此产品任何使用都构成对以上条款的承诺和接受。

GeneCopoeia 致力于为我们的客户提供高质量的产品。如果您对我们的产品有任何问题和担忧，请与我们联系：020-28069233。

EF021-053124

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。