

GA-RNA Transfection Kit 转染试剂使用说明书

产品介绍

GA-RNA Transfection Kit 转染试剂是一种专门用于小片段 RNA (siRNA / ASO / miRNA mimic / miRNA inhibitor / piRNA / tRNA 等) 的高效低毒转染试剂 (不适合转染质粒), 极具生物相容性, 转染效率十分优异, 细胞毒性小。该转染试剂转染过程无需更换特殊培养基以及更换培养基的操作, 转染操作方便, 快捷, 高效。是理想的小片段 RNA 转染工具。

产品编号	产品名称及具体组分	规格	规格	规格
GAT1001	GA-RNA Transfection Kit	100ul	0.5ml	1ml
GAT10011	GA-RNA Reagent (组分 1)	100ul	0.5ml	1ml
GAT10012	GA-RNA Buffer (组分 2)	1ml	5ml	10ml

表 1 GA-RNA Transfection Kit 转染试剂成分组成及规格

运输及储存条件:

GA-RNA Transfection Kit 转染试剂为常温运输, 长期储存为 2~8℃ 保存, 可稳定保存一年。

注意事项:

- GA-RNA Transfection Kit 不可冷冻保存, 冷冻后会破坏 GA-RNA Reagent 组分的结构和性状, 会极大的影响细胞转染效果。推荐转染前细胞密度 50% ~80% 为最佳。
- 请确保 RNA 原液的溶剂为无酶水, 不得使用 PBS 或培养基稀释溶解 RNA。
- 该型号转染试剂适用于常规贴壁细胞系, 贴壁肿瘤细胞系, 部分悬浮细胞系, 部分干细胞, 部分原代细胞 (不适用于免疫细胞)。若细胞为悬浮细胞, 干细胞, 普通原代细胞, 可以先尝试先用此款转染试剂, 若转染效率不佳可尝试更换免疫细胞专用转染转染试剂 GA-RNA Plus Transfection Kit, 少数细胞 2 款转染试剂若都无法达到良好的转染效率, 可尝试电转或者其他技术方法。

转染步骤示例:

以 GA-RNA Transfection Kit 转染 siRNA 于 6 孔板, siRNA 转染终浓度为 40nmol/L 为例, 其他规格孔板转染请参考表 2。

为了降低细胞密度、试剂用量, 转染效率等因素导致的孔间差异, 保证实验的可靠性和可重复性, 一般建议:

1. 接种细胞时的每个孔的细胞密度, 数量保持尽可能一致, 且细胞均匀分布。
2. 转染时的细胞密度应根据细胞生长速度、大小、后续检测时间等条件进行调整。

1. 细胞接种:

贴壁细胞: 以 293T 细胞为例, 接种~ 0.4×10^6 个细胞到含 2mL 完全培养基的六孔板培养孔中, 使细胞转染时达到 50-80% 细胞密度。

悬浮细胞: 以 THP-1 细胞为例, 接种~ 0.5×10^6 个细胞至含 2mL 完全培养基的六孔板培养孔中。

注) 1: 不同细胞初始接种数量依据不同的细胞大小, 细胞类型和细胞生长速度, 培养时间, 实验目的相应调整, 每个孔接种的细胞数量尽可能相同, 且细胞均匀分布。

2: 悬浮细胞、干细胞、免疫细胞、原代细胞本身的特性普遍比较较难转染, 可通过调整 siRNA 用量以及转染试剂的用量, 不同的转染试剂及尽可能规范实验操作等来尝试提高转染效果, 如无明显改善可更换为电转方式或其他方法。

2. siRNA 转染:

siRNA 预混液制备: 取无菌无酶 EP 管一支, 加入 46ul 的 GA-RNA Buffer 和 4ul 的 20umol/L 的 siRNA 储存液, 吹打混匀。

siRNA-GA 转染复合物制备: 取 7.5uL 的 GA-RNA Reagent 加入到 siRNA 预混液的 EP 管中, 移液枪充分吹打混匀 20 次以上, 或者旋涡 2-3s。

注: a) 转染复合物在室温下可稳定存放 8 小时, 请勿将 siRNA-GA 转染复合物置于冷冻条件。

b) RNA/GA-RNA Reagent 的比例是 GA-RNA Transfection 转染试剂包封的关键因素，如需增减每孔 siRNA 用量，您可以按比例增加或减少加入细胞的 siRNA-GA 转染复合物的体积。

将 siRNA-GA 转染复合物加入到待转染的孔板的细胞培养基中，轻轻混匀。

进行其他必要的特殊处理（可选，如加药处理等具体依据具体实验情况来确定）。

将培养板置于 37°C 的 CO₂ 培养箱中培养 24~96h（培养时间与实验目的相关，qPCR 一般为转染后 24-48h 收集细胞提取 RNA 检测 RT-qPCR；WB 一般为转染后 48-96h 收集细胞检测 WB）。

试剂	孔板			
	96 孔(ul)	24 孔(ul)	12 孔板	6 孔(ul)
GA-RNA Buffer	2.3	11.5	23	46
20umol/L siRNA 储存液	0.2	1	2	4
GA-RNA Reagent	0.38 或 0.75	1.9 或 3.8	3.8 或 7.5	7.5 或 15

表 2 终浓度 40nmol/L siRNA 不同培养皿的推荐转染用量

注)提供 2 种不同的 GA-RNA Reagent 转染浓度，具体浓度可根据不同的细胞摸索选择，对于多数细胞通常按照低剂量 GA-RNA Reagent 用量即可达到理想的转染效果。

3. siRNA 效果检测

RNA 水平检测：转染 siRNA 后 24~48h 进行 RNA 水平检测。通过 qPCR 检测目的基因 RNA 水平的变化情况是 RNAi 实验结果的公认标准。由于细胞种类的不同，各实验最佳检测时间也不相同。检测时间过晚可能导致检测干扰效率不佳甚至检测不到干扰效果。（注：检测的 qPCR 引物设计质量很重要，我司（基安生物）可提供优质的 qPCR 引物设计合成）

蛋白水平检测：对于编码蛋白的基因，如需进行蛋白水平检测，推荐转染后 48-96h 进行相应检测。由于蛋白表达受到影响因素较多，如检测蛋白水平变化不明显请检测其 mRNA 水平变化情况，以确定 siRNA 是否起作用。（注：WB 检测的抗体质量很重要，我司（基安生物）可提供优质的 wb 抗体）

常见问题

1. 如果我需要增加/减少 RNA 的用量，转染试剂各组分的量如何调整？
调整 RNA 的用量，可以等比例增加/减少转染试剂的各组分用量。比如 siRNA 的转染终浓度从 40nmol/L 调整为 80nmol/L，则 GA-RNA Buffer 需要从 46ul 调整为 92ul，GA-RNA Reagent 用量从 7.5ul/15ul 调整为 15ul/30ul。
2. 使用过程中，Reagent 和 buffer 在从 2-8°C 冰箱取出使用之前，是否需要先静止恢复到常温再使用？
不需要恢复室温的步骤，我们实验测试并未发现从 2~8°C 取出立即使用和恢复至室温再使用有明显的差异。
3. Reagent 和 buffer 分别在使用之前是否需要漩涡振荡器中充分振荡混匀再使用？
在使用前，一般不需要涡旋混匀。如果担心有沉淀，可以在使用前颠倒混匀几下。
4. 常规细胞转染试剂和免疫细胞的转染试剂这两款转染试剂，对于转染时的最佳细胞密度范围是多少？
转染时因为细胞大小不同，所以密度不好给出确定值，但是如果是贴壁细胞，有 50~80% 左右的汇合度为佳。
5. 转染过程中，细胞是正常的培养基还是需换特定的培养基？
转染前后均无需更换培养基，使用该细胞的正常的生长培养基即可。
6. 转染的时候，细胞培养基时候是否可以正常加双抗，加双抗可能会有什么影响？
通常培养基可以添加双抗，添加双抗通常不会对细胞有明显影响。极少数细胞如有较明显影响，则不加双抗。
7. 转染后多久可以完成转染过程，细胞多久后可以正常更换培养基？
转染 6 小时后，RNA 基本进入细胞，如果想换液，在这之后得任何时间都可以换液。

温馨提示：如涉及到使用本公司产品发表文章请引用产品来源，QianMoBio Co. Ltd, Shanghai, China，上海芊陌生物科技有限公司。对于引用注释本公司产品发表的 SCI paper，联系销售或者本公司，可获取对应的科研奖励金。