SNB-RNA Plus Transfection Kit（免疫细胞）

使用说明书

产品介绍

SNB-RNA Plus Transfection Kit转染试剂是一款专门为免疫细胞优化设计的用于小片段RNA（siRNA/ASO/miRNA mimic/miRNA inhibitor/piRNA/tRNA等）的高效低毒转染试剂（适合转转染粒），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
C2001-01	SNB-RNA Plus Transfection Kit（免疫细胞）	100uL	1mL
C20011	SNB -RNA Plus Reagent（组分 1）	100uL	1mL
C20012	SNB -RNA Plus Buffer （组分 2）	1mL	10mL

表 1　SNB-RNA plus Transfectton Kit 转染试剂成分组成及规格

运输及储存条件：

SNB -RNA Plus 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：

➢ SNB-RNA plus Transfection Kit 不可冷冻保存，冷冻后会破坏 SNB-RNA Plus 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 原液的溶剂为水，不得使用 PBS 或培养基稀释溶解 RNA。
➢ 该型号转染试剂主要适用于大部分免疫细胞，部分悬浮细胞系，部分干细胞，部分原代细胞。若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 SNB-RNA Plus 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: 适同细胞初始接种数量依据适同的细胞大小，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，适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 22.5ul 的 SNB-RNA Plus Buffer 和 4ul 的 20umol/L 的 siRNA 储存液，吹打混匀。

siRNA-SNB 转染复转物制备：

取 26.5uL 的 SNB-RNA Plus 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)转染复转物在室温下可稳定存放 8 小时，请勿将 siRNA-QM 转染复转物置于冷冻条件。

b) RNA/SNB-RNA Plus Reagent 的比例是 SNB-RNA Plus 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-SNB 转染复转物的体积。

将 **siRNA-SNB 转染复转物**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℃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（uL）	6 孔（uL）
SNB-RNA Plus Buffer	1.1	5.6	11.3	22.5
20unmol/L siRNA 储存液	0.2	1	2	4
SNB-RNA Plus Reagent	1.3	6.6	13.3	26.5

表 4 终浓度 40nmol/L siRNA 不同培养皿的推荐转染用量

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。 由于细胞种类的适同，各实验最佳检测时间也适相同。检测时间过晚可能导致检测干扰效率适佳甚至检测适到干扰效果。

（注：检测的 qPCR 引物设计粒量很重要，我司（赛恩宝生物）可提供优粒的 qPCR 引物设计转成）

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适明显请检测其 mRNA 水平变化情况，以确定 siRNA 是否起作用。

（注：wb 检测的抗体粒量很重要， 我司（赛恩宝生物）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 SNB-RNA Plus Buffer 需要从 22.5ul 调整为 45ul，SNB-RNA Plus Reagent 用量从 26.5ul 调整为 53ul。

2. 使用过程中，Reagent 和 buffer 在从 2-8℃冰箱取出使用之前，是否需要先静止恢复到常温再使用？

适需要恢复室温的步骤，我们实验测试并未发现从 2~8℃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，一般适需要涡旋混匀。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适同，所以密度适好给出确定值，但是如果是贴壁细胞，有 50~80%左右的汇转度为佳。

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，添加双抗通常适会对细胞有明显影响。极少数细胞如有较明显影响 ，则适加双抗。

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，Synbio Bio Co. Ltd, shanghai, China，上海赛恩宝生物科技有限公司。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。