

NanoLNP™ Transfection Reagent for RNA

Cat# CT0010

产品概述

脂质纳米粒（LNP）技术是一种先进的核酸递送系统，它通过独特的跨膜转运和内体逃逸机制，实现了 siRNA 等基因材料的高效细胞内递送。本产品使用了创新 RNA-LNP 制备方法，不仅简化了操作流程，还实现了微量 RNA 高效封装。此外，使用的是生物可降解的新型可电离脂质材料，这些材料在进入细胞后能够迅速代谢，且不含乙醇，对细胞的影响极小，从而实现了细胞零压力的转染效果。更重要的是，LNP 技术具有广泛的适用性，能够适应不同培养基条件下的多种细胞类型，使用范围：用于 mRNA 和 siRNA、sgRNA 等短链 RNA 在常用细胞系中的高效递送，助力基因编辑、功能组学研究等。

产品/组分信息

组分编号	产品名称	CT0010-0.1ML	CT0010-1.5ML
CT0010-0.1ML/1.5ML-1	NanoLNP™ Transfection Reagent for RNA	0.1 mL	1.5 mL
CT0010-0.1ML/1.5ML-2	NanoLNP™ Transfection Buffer	1 mL	8 mL

储存方式

2-8°C 保存，不可冷冻。

使用说明

操作前注意事项

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套
- 试用本产品前请仔细阅读说明书
- 本产品仅用于科研

所需物料

- mRNA 或短链 RNA
- 离心管、细胞培养板/平皿

操作时间

- 细胞准备：10 mins
- 转染复合物制备：10 mins
- 转染：1-3 days

一、短链 RNA 转染

(以 24 孔板转染 siRNA 为例的操作步骤)

Day 1: :

在 500 μL 培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70-90%。注: 在更低密度时进行转染可以让转染和检测之间的时间间隔更长, 并且使因细胞过量生长造成的细胞活力损失更小。

Day 2:

1. siRNA 预混液制备: 将 15pmol 的 siRNA 储液用适量的 Buffer 稀释到浓度 3 μM (3 pmol/ μL), 得到 siRNA 预混液;
2. siRNA-NanoLNP™ 复合物制备: 将 siRNA 预混液和 NanoLNP™ 纳米混悬液等体积混合, 吹打 20 次以上或涡旋 2-3 秒, 形成浓度 1.5pmol/ μL 的 siRNA-NanoLNP™ 复合物;
3. 将 siRNA-NanoLNP™ 复合物均匀滴加入细胞中, 以交叉交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中, 一般培养两天左右, 即可用适当方式检测转染效果, 例如 qPCR、Western、ELISA、报告基因等。对于有些半衰期比较长的目的基因需要在转染 siRNA 或 miRNA 后 3-5 天, 才能检测到 RNA 或蛋白水平的显著下降。

扩大或缩小转染规模

在不同规格培养容器中转染细胞, 按表中所示根据相对表面积按比例改变 NanoLNP™ Transfection Reagent、Buffer、核酸、细胞和培养基的用量。

步骤	试剂	培养容器				
		96-well	24-well	6-well	6-cm dish	10-cm dish
1) 3pmol/ μL siRNA 预混液制备	Buffer (以 siRNA 原液浓度 10 μM 为例)	0.7 μL	3.5 μL	17.5 μL	35 μL	105 μL
	siRNA	3pmol	15pmol	75pmol	150pmol	450pmol
2) siRNA-NanoLNP 复合物制备	NanoLNP 纳米混悬液	1 μL	5 μL	25 μL	50 μL	150 μL
	siRNA 预混液	1 μL	5 μL	25 μL	50 μL	150 μL
3) 加入细胞	siRNA-NanoLNP 复合物	2 μL	10 μL	50 μL	100 μL	300 μL
	培养基体积	100 μL	500 μL	2mL	4mL	10mL

二、mRNA 转染

(以 24 孔板转染 mRNA 为例的操作步骤)

Day 1:

在 500 μL 培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70-90%。

Day 2:

1. mRNA 预混液制备: 取 1 个干净的 1.5mL 离心管, 加入适量 buffer 和 0.5 μg mRNA 后轻柔混匀, 得到浓度为 40ng/ μL 的 mRNA 预混液;
2. mRNA-NanoLNP™ 复合物制备: 在 mRNA 预混液中加入等体积的 NanoLNP™ 纳米混悬液中, 用移液枪吹打 20 次以上或涡旋 2-3 秒混匀, 获得浓度为 20ng/ μL mRNA-NanoLNP 复合物;
3. 将 mRNA-NanoLNP™ 复合物均匀滴加入细胞中, 以交叉交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中, 一般需要 24~48 h, 即可用适当方式检测转染效果, 例如荧光检测、Western、ELISA、报告基因等。

扩大或缩小转染规模

在不同规格培养容器中转染细胞, 按表中所示根据相对表面积按比例改变 NanoLNP™ Transfection Reagent、Buffer、核酸、细胞和培养基的用量。

步骤	试剂	培养容器				
		96-well	24-well	6-well	6-cm dish	10-cm dish
1) 40ng/μL mRNA 预混液制备	Buffer (以 mRNA 原液浓度 1μg/μL 为例)	2.4μL	12μL	60μL	120μL	360μL
	mRNA	0.1μg	0.5μg	2.5μg	5μg	15μg
2) mRNA-NanoLNP™复合物制备	NanoLNP™纳米混悬液	2.5μL	12.5μL	62.5μL	125μL	375μL
	mRNA 预混液	2.5μL	12.5μL	62.5μL	125μL	375μL
3) 加入细胞	mRNA-NanoLNP™复合物	5μL	25μL	125μL	250μL	750μL
	培养基体积	100μL	500μL	2mL	4 mL	10mL

注意事项

1. 请确保 RNA 原液的溶剂为无酶水，且 mRNA 浓度不低于 200ng/μL，短链 RNA 浓度不低于 10μM。其他类型的溶剂对转染效果可能会有一定影响，具体情况可以联系我们。
2. 不得使用 PBS 或培养基稀释 siRNA 原液，请确保稀释得到的 RNA 预混液浓度为 3pmol/μL (即 3μM)。
3. 若多种 RNA 共转，如 Cas9 mRNA 与 sgRNA 共转，则 RNA 预混液浓度为 Cas9 mRNA + sgRNA 的总浓度。
4. 常见短链 RNA 如 siRNA 如无特殊修饰，1nmol 的质量通常为 13-15μg，准确质量请结合具体序列、修饰情况进行准确计算。
5. 请注意 RNA/LNP 的比例是 LNP 包封的关键因素，如需增减每孔 RNA 用量，您可以按比例增加或减少加入细胞的每孔 RNA-NanoLNP™ 复合物的体积。
6. RNA-NanoLNP™ 复合物在室温条件下可稳定存放 8 小时，请勿将 RNA-NanoLNP™ 复合物置于冷冻条件。
7. 血清和抗生素的存在不会影响转染效率，也不会影响细胞转染后导致细胞毒性，转染 6h 以后可按细胞常规培养流程，进行换液或其他操作。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

CYTOCH