

# NanoLNP™ Primary Immune Cells (Human) Transfection Reagent for RNA

Cat# CT0014

## 产品概述

脂质纳米粒（LNP）技术是一种先进的药物递送系统，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 在人原代免疫细胞的高效递送，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	CT0014-0.1ML	CT0014-1.5ML
CT0014-0.1ML/1.5ML-1	NanoLNP™ Primary Immune Cells (Human) Transfection Reagent for RNA	0.1 mL	1.5 mL
CT0014-0.1ML/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

## 二、短链 RNA 转染（适用于人原代免疫细胞的短链 RNA 转染）

(以 24 孔板转染 siRNA 为例的操作步骤)

### Day 1: :

在 500 $\mu$ L 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 $\mu$ M (3 pmol/ $\mu$ L)，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/ $\mu$ L 的 siRNA-NanoLNP™ 复合物；
3. 将 siRNA-NanoLNP™ 复合物均匀滴加入细胞中，以交叉的方式轻柔混匀。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™ Immune Cells 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/ $\mu$ L siRNA 预混液制备	Buffer (以 siRNA 原液浓度 10 $\mu$ M 为例)	0.7 $\mu$ L	3.5 $\mu$ L	17.5 $\mu$ L	35 $\mu$ L	105 $\mu$ L
	siRNA	3pmol	15pmol	75pmol	150pmol	450pmol
2) siRNA-NanoLNP™ 复合物制备	NanoLNP™ 纳米混悬液	1 $\mu$ L	5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	50 $\mu$ L	150 $\mu$ L
	siRNA 预混液	1 $\mu$ L	5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	50 $\mu$ L	150 $\mu$ L
3) 加入细胞	siRNA-NanoLNP™ 复合物	2 $\mu$ L	10 $\mu$ L	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	300 $\mu$ L
	培养基体积	100 $\mu$ L	500 $\mu$ L	2mL	4mL	10mL

### 注意事项

1. 请确保 siRNA 原液的溶剂为无酶水，且浓度不低于 10 $\mu$ M。
2. 不得使用 PBS 或培养基稀释 siRNA 原液，请确保稀释得到的 siRNA 预混液浓度为 3pmol/ $\mu$ L (即 3 $\mu$ M)。
3. siRNA-NanoLNP™ 复合物在室温条件下可稳定存放 8 小时，请勿将 siRNA-NanoLNP™ 复合物置于冷冻条件。
4. 请注意 siRNA/LNP 的比例是 LNP 封装的关键因素，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每孔 siRNA-NanoLNP™ 复合物的体积。
5. 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。

## 三、mRNA 转染（适用于鼠原代免疫细胞的 mRNA 转染）

(以 24 孔板转染 mRNA 为例的操作步骤)

### Day 1:

在 500  $\mu$ L 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, 加入适量的 buffer 和 0.5 $\mu$ g mRNA 后轻柔混匀, 得到浓度为 40ng/ $\mu$ L 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/ $\mu$ L mRNA-NanoLNP™复合物;
3. 将 mRNA-NanoLNP™复合物均匀滴加入细胞中, 以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™ Immune Cells 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/ $\mu$ L mRNA 预混液制备	Buffer (以 mRNA 原液浓度 1 $\mu$ g/ $\mu$ L 为例)	2.4 $\mu$ L	12 $\mu$ L	60 $\mu$ L	120 $\mu$ L	360 $\mu$ L
	mRNA	0.1 $\mu$ g	0.5 $\mu$ g	2.5 $\mu$ g	5 $\mu$ g	15 $\mu$ g
2) mRNA-NanoLNP™复合物制备	NanoLNP™纳米混悬液	2.5 $\mu$ L	12.5 $\mu$ L	62.5 $\mu$ L	125 $\mu$ L	375 $\mu$ L
	mRNA 预混液	2.5 $\mu$ L	12.5 $\mu$ L	62.5 $\mu$ L	125 $\mu$ L	375 $\mu$ L
3) 加入细胞	mRNA-NanoLNP™复合物	5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	125 $\mu$ L	250 $\mu$ L	750 $\mu$ L
	培养基体积	100 $\mu$ L	500 $\mu$ L	2mL	4 mL	10mL

#### 注意事项

1. 确保 mRNA 原液的溶剂为无酶水, 且浓度不低于 200ng/ $\mu$ L。
2. 不得使用 PBS 或培养基稀释 mRNA 原液, 确保稀释得到的 mRNA 预混液浓度为 40ng/ $\mu$ L。
3. mRNA-NanoLNP™复合物在室温条件下可稳定存放 8 小时, 请勿将 mRNA-NanoLNP™复合物置于冷冻条件。
4. 请注意 mRNA/LNP 的比例是 LNP 封装的关键因素, 如需增减每孔 mRNA 用量, 您可以按比例增加或减少加入细胞的每孔 mRNA-NanoLNP™复合物的体积。
5. 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](http://www.cytoch.com).

Or contact us by:

E-mail: [support@cytoch.com](mailto:support@cytoch.com)

Tel: 400-969-8881

For research use only.

**CYTOCH**