

Nanolipo RNAi Transfection Reagent in Vivo {siRNA 体内转染试剂}

货号: BRK9016

规格: 50 T

◆ 产品简介

Nanolipo RNAi Transfection Reagent in Vivo 是一款专门为 siRNA 转染到哺乳动物体内而开发的一款新型纳米脂质体转染试剂, 具有生物毒性低、递送效率高等特点。

◆ 产品组成

组分名称	体积	保存条件
Nanolipo RNAi Transfection Reagent	1000 μ l	2~8°C
Nanolipo RNAi Buffer	30 ml	2~8°C

◆ 保存条件

室温运输, 2~8°C保存, 有效期两年

◆ 自备实验材料

超滤离心管 (100 kDa, 推荐使用 Millipore 的再生纤维素材质滤膜的超滤管), 1×PBS (无菌), 涡旋仪, 生物安全柜或超净工作台

◆ 实验流程

1、siRNA 的溶解

取一管 siRNA 干粉, 加入适量的 Nanolipo RNAi Buffer 配制成 50 μ M 的 siRNA 母液。

2、转染复合物的制备

(1) 转染试剂在使用之前, 需提前恢复至室温后上下颠倒混匀数次, 轻轻瞬离。

(2) 取 250 μ l 的 Nanolipo RNAi Buffer 置于 1.5 ml EP 管中, 加入 25 μ l 配制好的 50 μ M 的 siRNA 母液 (即 16.5 μ g), 涡旋混匀。缓慢加入 12.5 μ l 的 siRNA 转染试剂。加完后, 再涡旋 5 秒混匀, 获得转染复合物的粗制品。为获得较好的 siRNA 包装效果, 该体系可按比例缩小, 不可等比扩大。

(3) 将 siRNA 转染复合物的粗制品全部转移至超滤离心管中 (100 kDa), 3000 rpm, 常温离心 10 min。弃去外管液体, 每管内管加入 500 μ l 的 PBS。涡旋震荡混匀后, 再次 3000 rpm, 常温离心 10 min, 弃去外管液体。最后向内管加入一定体积的 PBS, 涡旋震荡混匀, 直至将管内脂质体均震荡混匀到 PBS 中。补充一定量 PBS 定容至所需体积,

收集注射。

3、动物注射（以小鼠为例）

小鼠一般建议注射 siRNA 剂量为 1 mg/kg, 以小鼠重量 25 g/只计算, 即需要 25 µg siRNA。如制备 4 只小鼠的注射用量,则需要 100 µg siRNA。即每次制备需 16.5 µg siRNA,需进行 6 次 siRNA 转染复合物的制备,然后将 6 管 siRNA 转染复合物的粗制品混在一起,按上述步骤 2 进行超滤管离心洗涤,最后加入适量 PBS 将终溶液定量至 200µl,最终获得 0.5µg/ul 的 siRNA,每只小鼠注射 50µl (注射一次,可维持 4-6 天的敲低效果。如需进行持续敲低干扰,可在 4 天后进行再次注射)。

◆ 注意事项

1. 步骤 2 中的转染复合物的制备体系可等比缩小,但不可等比放大。如需包装更多样品,则需分多管制备,否则会因混匀不够充分,导致 Nanolipo RNAi Transfection Reagent 析出(需分多管制备,合并混匀后超滤离心)
2. Nanolipo RNAi Transfection Reagent 试剂中一定不能混入 H₂O,否则整管纳米脂质材料都会因发生自组装而导致试剂失效。
3. 试剂配制过程中的所有操作均需在生物安全柜或超净工作台中进行。