

Ribo IncRNA Smart Silencer 产品使用说明

RN: R11062.4

产品简介

Ribo IncRNA Smart Silencer 是 IncRNA 特异性 RNA 抑制剂，经化学转染试剂或其它方法转染至细胞内后，可在 RNA 水平抑制目标基因的表达。

运输保存

产品以冻干粉的形式，常温运输。收到产品后，请于-20℃以下低温保存，冻干粉可以稳定保存一年。使用前需瞬时离心，用灭菌 RNase-free H₂O 溶解配制成 20μM 储存液，分装保存，避免反复冻融（不超过 5 次）。

表 1 Ribo IncRNA Smart Silencer 20 μM 储存液的配置参考

Smart Silencer (nmol)	5
溶解体积 (μL)	250

使用前须知

- 1) 产品以冻干粉的形式提供，由于影响结晶形态的因素很多，产品外观有些差异，甚至无法用肉眼观察到，此为正常现象。
- 2) 为避免外界因素（包括酶，极端 pH 或者温度条件等）导致产品降解，所有操作请严格遵循 RNA 操作要求。
- 3) 开盖前瞬时离心，沿管壁轻柔加溶剂，于室温溶解半小时，并涡旋振荡数次促溶，完全溶解后及实验过程中，产品最好于冰上放置，使用完毕后请于-20℃~-80℃小心保存。
- 4) 寡核酸转染效率主要为细胞性质和转染方法所决定，需针对具体实验细胞选择合适的转染方法。
- 5) 使用过程请佩戴一次性手套等防护用品。
- 6) 本试剂盒仅供科研使用，不可用于体外诊断或治疗。

细胞实验方法

1. 转染浓度：

RiboIncRNA Smart Silencer 产品最佳工作浓度因不同的细胞类型及研究目的而异。一般初始转染浓度为 100 nM，转染后检测时间为 24~72h。最佳转染效率一般通过设置时间曲线和浓度梯度进行优化，浓度梯度范围一般为 50~200 nM。

2. 转染步骤：

以riboFECT CP Reagent 转染 Ribo IncRNA Smart Silencer于24孔板，转染浓度为100 nM为例，其他规格容器的试剂用量请参考表2。若使用其它转染试剂或转染方法请参考具体的试剂或仪器说明。

注：转染成功是Ribo IncRNA Smart Silencer发挥作用的前提，不同细胞转染的难易程度是完全不一样的，对此，转染试剂和转染方法的选择非常重要，需要选择对实验细胞转染率高且毒性低的转染试剂和转染方法。

1) 接种细胞

以HeLa细胞为例，接种 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^6$ 个细胞至含有适量完全培养基的24孔板培养孔中，使转染时的细胞密度能够达到30~50%。

注：1) 需根据细胞的增殖速度、对转染的毒性反应以及检测时间等调整转染时的细胞密度，除特定实验（如划痕实验等）外，一般以到检测时间点时细胞未完全长满为宜；2) 每孔接种的细胞数量应尽量相同，使细胞均匀分布。

2) 转染

对于每个转染样品，请按以下步骤准备：

a. 转染复合物配制：用30 μL 1× riboFECT CP Buffer (v2)（由10× riboFECT CP Buffer用PBS稀释所得，现配现用）稀释2.5 μL 20 μM Ribo IncRNA Smart Silencer储存液 (v3)，轻轻混匀；然后加入3 μL riboFECT CP Reagent (v4)，轻轻吹打混匀，室温孵育0~15分钟，制备成转染复合物。

- 注：1) 请勿振荡，溶液可能会有浑浊，但不会影响转染；2) 混合液可室温放置一段时间，但不宜超过 24h。
- b. 将riboFECT CP转染复合物逐滴加入到适量无双抗完全培养基（v1）的细胞中，轻轻混匀。
- 注：混合液加入至原细胞培养基，一般无需移除或更换，但需依据具体实验情况而定。
- c. （可选）进行其他必要的特殊处理（如加药处理）。
- d. 将培养板置于37℃的CO2培养箱中培养24~96小时（培养时间与实验目的相关）。

表 2 使用 riboFECT CP 转染 Ribo IncRNA Smart Silencer 用量参考

v1: 细胞培养基; v2: 1× riboFECTCP Buffer; v3: 20 μM Ribo IncRNA Smart Silencer; v4: riboFECTCP Reagent

	Silencer 终浓度	每孔体积	培养基 (v1)	Buffer (v2)	Silencer (v3)	Reagent (v4)
96-well	200 nM	100 μL	92.40 μL	6 μL	1.0 μL	0.6 μL
	100 nM	100 μL	92.90 μL	6 μL	0.5 μL	0.6 μL
	50 nM	100 μL	93.15 μL	6 μL	0.25 μL	0.6 μL
24-well	200 nM	500 μL	462.00 μL	30 μL	5.0 μL	3 μL
*	100 nM	500 μL	464.50 μL	30 μL	2.5 μL	3 μL
	50 nM	500 μL	465.75 μL	30 μL	1.25 μL	3 μL
12-well	200 nM	1 mL	924.00 μL	60 μL	10 μL	6 μL
	100 nM	1 mL	929.00 μL	60 μL	5 μL	6 μL
	50 nM	1 mL	931.50 μL	60 μL	2.5 μL	6 μL
6-well	200 nM	2 mL	1848.00 μL	120 μL	20 μL	12 μL
	100 nM	2 mL	1858.00 μL	120 μL	10 μL	12 μL
	50 nM	2 mL	1863.00 μL	120 μL	5 μL	12 μL

注：*为实验参考用量示例，对于部分细胞类型需要进一步优化。

3. 效果检测：

转染完成后24~72小时均可进行IncRNA抑制效果检测，最佳检测时间与细胞类型，转染试剂，检测目的等相关。

- a. RNA水平的检测：RNA是检测IncRNA抑制效率的最佳指标，转染后24~72小时即可检测靶基因RNA表达变化，检测方法宜采用RT-qPCR检测方法。注：引物设计质量很重要。
- b. 功能检测：应用EdU细胞增殖等检测方法进行Ribo IncRNA Smart Silencer对细胞功能的直接筛选。

相关产品

表 3 相关产品

产品编号	产品名称
C10511-05	riboFECT CP Transfection Kit(166T)
C10410-1	riboMONITOR Transfection Indicator Kit(Green),20T
C10310-1	Cell-Light EdU Apollo567 In Vitro Kit(100T)
C10310-2	Cell-Light EdU Apollo643 In Vitro Kit(100T)
C10310-3	Cell-Light EdU Apollo488 In Vitro Kit(100T)
C11026-1	riboAPO One-Step TUNEL Apoptosis Kit (Red)(20T)
C11012-1	riboAPO One-Step TUNEL Apoptosis Kit (Green)(20T)