

LTXFECT Huvec siRNA/miRNA转染试剂

货号: CSP020-0.1/ CSP020-0.5/ CSP020-1.0/ CSP020-2.0

储存条件: 转染试剂 -20℃ 避光保存, Trans Enhancer 2-8℃ 存放

产品介绍

LTXFECT Huvec siRNA/miRNA转染试剂 (LTXFECT Huvec) 是专门用于内皮细胞包括人脐静脉内皮细胞、人肺动脉内皮细胞、大鼠肺动脉内皮细胞等siRNA/miRNA转染的试剂。内皮细胞形成血管的内壁,是血管腔内血液及其他血管壁(单层鳞状上皮)的接口。内皮细胞是沿着整个循环系统,由心脏直至最小的微血管。内皮细胞,是较难转染的一类细胞。内皮细胞不仅对转染试剂的毒性较为敏感,细胞膜的通透性也不高。普通转染试剂不仅难以将DNA、siRNA和mRNA等外源核酸片段转入内皮细胞,还会导致培养细胞的大量死亡。中乔新舟团队采用可降解生物材料转染技术,成功研发出内皮细胞专用的LTXFECT siRNA/miRNA转染试剂。LTXFECT Huvec具有非常优异的siRNA转染性能,可高效转染人脐静脉内皮细胞、肺动脉内皮细胞等,在Huvec中的转染阳性率可高达90%左右。特别是LTXFECT Huvec采用可降解生物材料,完全克服了普通转染试剂高细胞毒性的缺点,细胞毒性极低,转染后内皮细胞死亡率只有8%左右。以上可见,LTXFECT Huvec siRNA/miRNA转染试剂是对内皮细胞进行siRNA/miRNA转染实验的理想选择。本试剂只进行siRNA/miRNA等小分子核酸的转染,如进行质粒DNA转染,请选用Huvec质粒DNA转染试剂。

产品特点

- ◎可高效转染人脐静脉内皮细胞、肺动脉内皮细胞等,在Huvec中的转染阳性率可高达90%左右;
- ◎极低的细胞毒性,使用可降解生物材料,转染后内皮细胞死亡率只有8%左右;
- ◎操作非常简便:不需要 Opti-MEM,因毒性较低,转染4-6小时后不需换液,不会导致细胞死亡增加从而影响实验结果。

试剂盒包装

产品货号	Trans Enhancer	LTXFECT Huvec
CSP020-0.1	3.4ml	0.1ml
CSP020-0.5	17ml	0.5ml
CSP020-1.0	34ml	1.0ml
CSP020-2.0	68ml	2.0ml

操作步骤: 本说明书适用于24孔培养板的转染实验,其他规格的培养板的用量参照下面表格,表格给出的是每孔的用量与体积。

- A. 细胞接种: 转染前一天接种细胞,每孔500 μl培养基(含血清内皮细胞专用培养基),使细胞在转染时密度在30-50%,尽量不要使用抗生素。
- B. siRNA-LTXFECT Huvec转染复合物制备:
 1. 12pmol siRNA 用 25μl Trans Enhancer 稀释。
 2. 1.5μl LTXFECT Huvec 用 25μl Trans Enhancer 稀释。轻轻混匀,室温孵育 5min。注意: 确保在 15 min 内执行第三步操作,不要过于延迟。
 3. 孵育 5min 后,将 siRNA 稀释液与 LTXFECT Huvec 稀释液混合(总体积 50μl)。轻轻混匀,室温孵育 15 min。
- C. 将转染复合物加到培养的细胞内(含血清内皮细胞专用培养基培养):
 1. 将50μl转染复合物加入培养孔内,培养孔内含有0.5ml培养的细胞。轻轻晃动培养板,混匀。
 2. 37℃培养18-72h, RT-qPCR检测基因抑制效果,对于Fam标记的siRNA,荧光显微镜观察转染阳性情况,可在转染后12h左右观察。

转染实验优化:

首次使用, 建议使用24孔板对转染试剂的用量进行优化, 如可选择三个培养孔进行优化, 每孔转染试剂的用量分别为1.3 μ L、1.5 μ L、1.7 μ L, 选择转染效果最优的转染试剂用量

转染实验要点:

- 应在内皮细胞生长状态良好时转染, 使用中乔新舟内皮细胞专用培养基 (货号: ZQ-1304) ;
- 计算接种细胞的数量, 使转染时细胞密度在 30-50%左右, 一般 24 孔板每孔接种数在 4×10^4 左右;
- 使用荧光标记的 siRNA 如 Fam-NC 进行荧光观察时, 24 孔板每孔建议用量调整为 24pmol, 12 孔板和 6 孔板用量建议加倍。

储存和运输

冰袋运输, 转染试剂 -20°C 避光保存, Trans Enhancer 2-8°C 存放。

有效期: 以上保存条件下, 有效期为1年。

质量控制

本产品经严格的质量检验证明, 无生物污染。

注意: 本产品仅用于科研实验。

LTXFECT Huvec siRNA/miRNA Transfection Reagent Formats for Various Cell Culture Vessels

Culture vessel	Surface area/well (cm ²)	Vol. of growth medium (μ L)	Vol. of Trans Enhancer (μ L)	siRNA Amount (pmol)	LTXFECT Huvec (μ L)
96-well	0.3	120	2 $\times$ 6	3	0.35
48-well	0.8	250	2 $\times$ 13	6	0.7
24-well	2	500	2 $\times$ 25	12	1.5
12-well	4	1000	2 $\times$ 50	24	3
6-well	10	2500	2 $\times$ 125	60	7.5