

Entranster™-in vivo
(动物体内转染试剂)

使用手册

Cat. No. 18668-11 Size:1ml

常温运输, 储存于 4℃。

一 产品介绍

英格恩生物公司 (Engreen Biosystem Co, Ltd.) 是专业的转染试剂研发生产厂商。Entranster™ 是英格恩生物公司研发合成的纳米聚合物转染试剂, 该试剂采用纳米技术合成, 是最新一代非病毒转染试剂。由于纳米技术的应用, Entranster™-in vivo 在细胞转染过程中, 表现了卓越的低毒、高效的性能。本品可用于转染 DNA, 也可以转染 RNA(如 siRNA、miRNA、mimic 和 inhibitor), 可用于如下研究:

- 基因治疗研究
- RNA 干扰研究
- 蛋白功能研究

本品显著的特点是方法简单、快捷, 价格低廉, 对动物没有明显的炎症反应, 对操作者安全。

二 使用前注意

一般情况下, 核酸(ug)和 Entranster™-in vivo (ul)按照 1:2 的比例使用。也可调整比例从 1:1.5 到 1:4 自行优化使用。

核酸的具体用量和注射用量须根据靶器官大小、动物大小、给药途径决定, 具体可参考下表(核酸的用量换算成 μg 计算)。

表 1 给药途径与核酸用量

	给药途径	建议的核酸用量	最大给药体积
成年小鼠	尾静脉	50 μg	200 μl -400 μl
	脑室	2.5-1 μg	5 μl
	腹膜	100 μg	0.6ml-1ml
	皮下肿瘤	10-50 μg	100 μl
成年大鼠	脑室	2-5 μg	20 μl
	静脉	150-300 μg	1-1.5ml

一些器官比如皮下肿瘤的用量, 也可以通过先确定最终的注射量, 然后根据表 2 推算出核酸的用量和转染试剂的用量。比如最终的注射量是 100ul, 那么核酸用量一般为 12.5ug, Entranster™-in vivo 的用量为 25ul。

表 2 100ul 转染复合物的组成

100μl 转染复合物	核酸稀释液	25μl 核酸溶液	25μl 纯水
			12.5μg 核酸
	转染试剂稀释液	25μl 的 10%葡萄糖溶液	
		25μl 转染试剂	
		25μl 的 10%葡萄糖溶液	

三 操作步骤

下面以 50μg 的核酸与 100μl 转染试剂，总注射体积 400ul，成年小鼠尾静脉注射为例说明。

- 核酸的稀释。**将 50μg 核酸用适量无内毒素纯水稀释成 0.5μg/μl，加入 10%葡萄糖溶液(w/v)100μl，使葡萄糖终浓度为 5%，终体积为 200μl，充分混匀。
- 转染试剂的稀释。**取 100μl 的 Entranster™-in vivo 试剂用等体积 100μl 的 10%葡萄糖溶液稀释，得到葡萄糖终浓度为 5%，终体积为 200μl，充分混匀。
- 转染复合物形成。**立即将稀释后的转染试剂加入到稀释后的核酸溶液中，立即充分振荡混匀。

表 3 400ul 转染复合物的组成

400μl 转染复合物	核酸稀释液	100μl 核酸溶液	100μl 纯水
			50μg 核酸
	转染试剂稀释液	100μl 的 10%葡萄糖溶液	
		100μl 转染试剂	
		100μl 的 10%葡萄糖溶液	

- 室温静置 15 分钟。**
- 动物注射。**
- 基因表达检测。**一般来说，根据注射方法和靶器官的差异，12-48 小时后基因表达效果较好。

注意：a. 稀释用液的选择：强烈建议用注射用 10%葡萄糖溶液，如果由于注射体积限制，可考虑采用更高浓度的葡萄糖溶液稀释，最终使注射时葡萄糖终浓度为 5%。

b. 转染用核酸请采用：高纯度和无内毒素核酸。提取的核酸请用无内毒素高纯水稀释并尽量高浓度，便于最终注射时葡萄糖终浓度为 5%。否则容易出现沉淀、造成动物的炎症反应和注射液渗透压过低，造成动物死亡。

c. 注射时的核酸终浓度请勿超过 0.5μg/μl 否则容易形成沉淀。

确定最优的核酸与转染试剂比例。核酸与转染试剂比例是最重要决定转染效率的因素之一。建议根据表 2 用量进行梯度实验确定最佳用量。

四 常见问题与解决方案

问题	可能原因	解决方案
转染复合物出现沉淀	核酸用 TE 等溶解	核酸用纯水溶解
	注射时的核酸终浓度过高	注射时的核酸终浓度 $\leq 0.5\mu\text{g}/\mu\text{l}$
	转染复合物被冻存或低温放置时间过长	转染复合物最好即配即用
转染水平低	核酸量欠佳	优化核酸用量
	核酸和转染试剂比例欠佳	优化核酸和转染试剂比例欠佳
动物有炎性反应或死亡	核酸用量过大	降低核酸用量，保持核酸和转染试剂比例，同步降低转染试剂用量。
	注射液中含内毒素	采用无内毒素的核酸
		注射前，采用 $0.22\mu\text{m}$ 滤器过滤除菌

五 储存与安全

本品常温运输，储存于 4°C ，有效期 12 个月。

本品使用安全，未发现任何生物、化学毒性。如不慎沾染，用清水冲洗即可。

六 其他相关试剂

EntransterTM-D: 用于将 DNA 高效低毒体外转染入动物细胞。

EntransterTM-H: 用于将 DNA 转染入 HEK293T 细胞。

EntransterTM-R: 用于将 RNA 体外转染入动物细胞。

七 质量保证

北京英格恩生物科技有限公司对 EntransterTM-in vivo 基因转染试剂的每批产品实行严格质量检验，并进行转染验证，以确保产品质量。请用户使用前务必认真阅读本手册。

八 使用限制

本转染试剂仅限科研用途。

Copyright © Engreen Biosystem Co., Ltd (China). 2008-2010. All rights reserved.

版权所有 © 北京英格恩生物科技有限公司 2008-2010。保留全部权利。