



## 瞬时转染实验报告

### 一、实验器材及试剂

#### 1、实验器材

名称	厂家	型号
立式冷藏柜	海尔	SC-332
台式高速冷冻离心机	湖南恒诺仪器设备有限公司	2-16R
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
CO <sub>2</sub> 细胞培养箱	Thermo	4131
电热恒温水浴锅	恩谊	HH-48

#### 2、主要实验试剂及耗材

耗材	厂家	货号
1.5 ml 离心管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-15-W
2 ml 研磨管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-20-W
10 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-10
100 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-100
200 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-200
1000 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-1000
5000 $\mu$ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-5000
T25	安徽科兔生物科技有限公司	KTP-25-T
胰酶	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-18
PBS 缓冲液	安徽科兔生物科技有限公司	RG-RT-01
DMEM 培养基	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-2
血清	安徽科兔生物科技有限公司	CG-SR-02
6 孔板	安徽科兔生物科技有限公司	KTB-6
Lipofectamine 3000	赛默飞	L3000015
Opti-MEM	赛默飞	31985070



## 二、实验步骤

1) 铺板：将 XX 细胞接种于 6 孔板（或按实验需求选择 12/24 孔板），使转染时细胞融合度达到 50–70%。通常提前 18–24 h 接种。铺板量：6 孔板： $2.0-3.0 \times 10^5$  cells/well；12 孔板： $1.0-1.5 \times 10^5$  cells/well；24 孔板： $0.5-0.8 \times 10^5$  cells/well

2) 转染复合物配制（6 孔板）：转染使用 Opti-MEM 稀释。每孔配制两管：Tube A（siRNA）：Opti-MEM 125  $\mu$ L，si-lncSNHG16 或 si-NC：加入至终浓度 50 nM；Tube B（Lipo3000）：Opti-MEM：125  $\mu$ L，Lipofectamine 3000：5  $\mu$ L，将 Tube B 缓慢加入 Tube A，轻轻混匀，室温孵育 10 min 形成转染复合物。

3) 加样转染：弃去原培养基，用无抗生素完全培养基（或新鲜完全培养基）轻轻更换后，将上述复合物滴加至对应孔中，轻轻摇匀。

## 三、结果判读：

瞬时转染结果主要看两个方面：转染是否成功，以及目标基因或 miRNA 是否达到预期变化。

## 四、注意事项

1、转染前细胞必须处于对数生长期，形态正常、贴壁均匀、无污染、无明显死亡细胞。细胞状态差会直接导致转染效率低、死亡率高、结果不稳定。

2、用于转染的质粒 DNA 应保证浓度足够、纯度高、无内毒素污染。