



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

产品名称: **DLin-MC3-DMA**

CAS 号: **1224606-06-7**

产品货号: **S87651**

生物活性:

Description	D-Lin-MC3-DMA 是一种可电离的阳离子脂质, 是一种有效的递送 siRNA 载体。
In Vitro	MC3 脂质纳米粒的制备 我们在此提供 FDA 批准的 Patisiran (一种靶向转甲状腺素蛋白 (TTR) mRNA 的 siRNA) 中 LNP 的脂质摩尔比。此配方中的脂质摩尔比为 D-Lin-MC3-DMA : DSPC : 胆固醇 : PEG2000-C-DMG = 50 : 10 : 38.5 : 1.5[1], RNA 与脂质的重量比为 0.05 (wt/wt)。 A. 脂质混合物的制备 1. 将脂质溶解于乙醇中, 配制成 10 mg/mL 的储备溶液。脂质储备溶液可储存于 -20° C 以备后用。 注 1: 可电离脂质通常是液体。由于其粘度, 应始终称重, 而不是依赖自动移液器的体积。 注意事项 2: 胆固醇溶液需保温 (>37° C) 以保持流动性。应及时转移胆固醇溶液, 避免冷却。 2. 按照说明制备脂质混合物溶液。每毫升脂质混合物添加以下物质: 548 μL 10mg/mL D-Lin-MC3-DMA (HY-112251)、254 μL 10mg/mL 胆固醇 (HY-N0322)、134 μL 10mg/mL DSPC (HY-W040193) 和 64 μL PEG2000-C-DMG (HY-145411) [2]。充分混合溶液以获得澄清溶液。此混合物含有 10 mg 总脂质。 注 3: 脂质和比例的选择可以根据需要进行改变, 这将影响 LNP 特性 (大小、多分散性和功效) 以及所需的 mRNA 量。 B. siRNA 制备 1. 用 100 mM pH 5 醋酸钠缓冲液制备 166.7 μg/mL siRNA 溶液。 注 4: 脂质: siRNA 重量比影响封装效率。可制备其他重量比作为替代配方, 用户应进行相应调整。 C. 混合 实现溶液快速混合的常用方法有三种: 移液器混合法、涡旋混合法和微流体混合法。所有这些混合方法都可用于各种应用。 值得注意的是, 移液器混合法和涡旋混合法可能会产生更多异质性 LNP, 封装效率较低, 并且容易产生变异。微流体装置能够以高度可控、可重复的方式快速混合, 从而实现均质 LNP 和高封装效率。在这些装置中, 乙醇脂质混合物和水溶液在单独的流中快速混合。当两股流混合时形成 LNP, 然后收集到单个收集管中。 1. 移液器混合法: 1.1. 吸取 3 mL siRNA 溶液, 快速加入 1 mL 脂质混合物溶液中 (一般使用 1:3 的乙醇脂质混合物与水性缓冲液比例)。快速上下移液 20-30 秒。 1.2. 将所得溶液在室温下孵育最多 15 分钟。 1.3. 混合后, 将 LNPs 用 PBS (pH 7.4) 透析 2 小时, 用 0.2 μm 过滤器无菌过滤, 并在 4° C 下储存。 2. 涡旋混合法: 1.1. 在涡旋混合器上以中等速度涡旋 3 mL siRNA 溶液。然后, 快速将 1 mL 脂质混合物溶液加入涡旋溶液中 (通常使用 1:3 的乙醇脂质混合物与水性缓冲液的比例)。继续涡旋所得分散液 20-30 秒。 1.2. 将所得溶液在室温下孵育最多 15 分钟。 1.3. 混合后, 将 LNPs 用 PBS (pH 7.4) 透析 2 小时, 用 0.2 μm 过滤器无菌过滤, 并在 4° C 下储存。 3. 微流体混合方法:



	1.1 将 3 mL siRNA 缓冲液与 1 mL 脂质混合物溶液在微流控装置中混合,总流速为 12 mL/min(一般采用 1:3 的乙醇脂质混合物与水性缓冲液的比例)。 注 5: 可以改变流量比和总流量等参数来微调 LNP。 1.2. 混合后,将 LNPs 用 PBS (pH 7.4) 透析 2 小时,用 0.2 μm 过滤器无菌过滤,并在 4° C 下储存。 参考 1. Curr Issues Mol Biol. 2022 年 10 月 19 日; 44(10):5013-5027。 2. Curr Protoc. 2023;3(9):e898.																					
In Vivo	含有二硬脂酰磷脂酰胆碱 (DSPC) 和可电离氨基脂质 (如二亚油基甲基-4-二甲氨基丁酸酯 (DLin-MC3-DMA)) 的脂质纳米颗粒 (LNP) 是有效的体内 siRNA 递送载体。LNP-siRNA 系统经过优化,可在小鼠静脉注射后在肝细胞中实现最大的基因沉默效力,其中包含 DLin-MC3-DMA (MC3)、DSPC、胆固醇和聚乙二醇 (PEG)-脂质,摩尔比为 50/10/38.5/1.5。DLin-MC3-DMA 表现出良好的的 pKa 值,可显著提高效力[1]。																					
Solvent&Solubility	细胞实验: DMSO 中的溶解度 : 200 mg/mL (311.48 mM; 超声助溶; 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响,请使用新开封的 DMSO) Ethanol 中的溶解度 : 125 mg/mL (194.68 mM; 超声助溶) <table><tr><th rowspan="4">Preparing Stock Solutions</th><th>Solvent Concentration</th><th>Mass</th><th>1 mg</th><th>5 mg</th><th>10 mg</th></tr><tr><td>1 mM</td><td></td><td>1.5574 mL</td><td>7.7871 mL</td><td>15.5741 mL</td></tr><tr><td>5 mM</td><td></td><td>0.3115 mL</td><td>1.5574 mL</td><td>3.1148 mL</td></tr><tr><td>10 mM</td><td></td><td>0.1557 mL</td><td>0.7787 mL</td><td>1.5574 mL</td></tr></table> *请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液;一旦配成溶液,请分装保存,避免反复冻融造成的产品失效。 储备液的保存方式和期限: -80°C, 6 months; -20°C, 1 month (protect from light)。-80°C 储存时,请在 6 个月内使用, -20°C 储存时,请在 1 个月内使用。 动物实验: 请根据您的 实验动物和给药方式 选择适当的溶解方案。 以下溶解方案都请先按照 In Vitro 方式配制澄清的储备液,再依次添加助溶剂: ——为保证实验结果的可靠性,澄清的储备液可以根据储存条件,适当保存;体内实验的工作液,建议您现用现配,当天使用; 以下溶剂前显示的百分比是指该溶剂在您配制终溶液中的体积占比;如在配制过程中出现沉淀、析出现象,可以通过加热和/或超声的方式助溶 方案 一 请依序添加每种溶剂: 10% DMSO → 40% PEG300 → 5% Tween-80 → 45% Saline Solubility: 5 mg/mL (7.79 mM); 悬浊液; 超声助溶 此方案可获得 5 mg/mL 的均匀悬浊液,悬浊液可用于口服和腹腔注射。 以 1 mL 工作液为例,取 100 μL 50.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 400 μL PEG300 中,混合均匀;再向上述体系中加入 50 μL Tween-80,混合均匀;然后再继续加入 450 μL 生理盐水 定容至 1 mL。 生理盐水的配制: 将 0.9 g 氯化钠,溶解于 ddH₂O 并定容至 100 mL,可以得到澄清透明的生理盐水溶液。 方案 二 请依序添加每种溶剂: 10% DMSO → 90% (20% SBE-β-CD in Saline)	Preparing Stock Solutions	Solvent Concentration	Mass	1 mg	5 mg	10 mg	1 mM		1.5574 mL	7.7871 mL	15.5741 mL	5 mM		0.3115 mL	1.5574 mL	3.1148 mL	10 mM		0.1557 mL	0.7787 mL	1.5574 mL
Preparing Stock Solutions	Solvent Concentration		Mass	1 mg	5 mg	10 mg																
	1 mM			1.5574 mL	7.7871 mL	15.5741 mL																
	5 mM			0.3115 mL	1.5574 mL	3.1148 mL																
	10 mM		0.1557 mL	0.7787 mL	1.5574 mL																	



	Solubility: 5 mg/mL (7.79 mM); 澄清溶液; 超声助溶 (<80°C) 此方案可获得 5 mg/mL 的澄清溶液。 以 1 mL 工作液为例, 取 100 μL 50.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μL 20% 的 SBE-β-CD 生理盐水水溶液 中, 混合均匀。 2 g SBE-β-CD (磺丁基醚 β-环糊精) 粉末定容于 10 mL 的生理盐水中, 完全溶解至澄清透明。 方案 三 请依序添加每种溶剂: 10% DMSO $\rightarrow$ 90% Corn Oil Solubility: $\geq$ 2.5 mg/mL (3.89 mM); 澄清溶液 此方案可获得 $\geq$ 2.5 mg/mL (饱和度未知) 的澄清溶液, 此方案实验周期在半个月以上的动物实验酌情使用。 以 1 mL 工作液为例, 取 100 μL 25.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μL 玉米油中, 混合均匀。
参考文献	[1]. Kulkarni JA, et al. Design of lipid nanoparticles for in vitro and in vivo delivery of plasmid DNA. Nanomedicine. 2017 May;13(4):1377-1387. [2]. Ferraresso F, Strilchuk AW, Juang LJ, Poole LG, Luyendyk JP, Kastrup CJ. Comparison of DLin-MC3-DMA and ALC-0315 for siRNA Delivery to Hepatocytes and Hepatic Stellate Cells. Mol Pharm. 2022;19(7):2175-2182.

完整储备液配制表:

请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液; 一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。

储备液的保存方式和期限: -80° C, 6 months; -20° C, 1 month (protect from light)。-80° C 储存时, 请在 6 个月内使用, -20° C 储存时, 请在 1 个月内使用。

可选溶剂	质量 溶剂体积 浓度	1 mg	5 mg	10 mg	25 mg
Ethanol / DMSO	1 mM	1.5574 mL	7.7871 mL	15.5741 mL	38.9354 mL
	5 mM	0.3115 mL	1.5574 mL	3.1148 mL	7.7871 mL
	10 mM	0.1557 mL	0.7787 mL	1.5574 mL	3.8935 mL
	15 mM	0.1038 mL	0.5191 mL	1.0383 mL	2.5957 mL
	20 mM	0.0779 mL	0.3894 mL	0.7787 mL	1.9468 mL
	25 mM	0.0623 mL	0.3115 mL	0.6230 mL	1.5574 mL
	30 mM	0.0519 mL	0.2596 mL	0.5191 mL	1.2978 mL
	40 mM	0.0389 mL	0.1947 mL	0.3894 mL	0.9734 mL
	50 mM	0.0311 mL	0.1557 mL	0.3115 mL	0.7787 mL
	60 mM	0.0260 mL	0.1298 mL	0.2596 mL	0.6489 mL
	80 mM	0.0195 mL	0.0973 mL	0.1947 mL	0.4867 mL



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

	100 mM	0.0156 mL	0.0779 mL	0.1557 mL	0.3894 mL
--	--------	-----------	-----------	-----------	-----------



源叶