

YALEPIC® mRNA 转染试剂-LFMR

YALEPIC® mRNA Transfection Reagent-LFMR

产品货号

产品货号	YJ52003-01	YJ52003-02
规格	1 ml	5 × 1 ml

产品保存及运输条件

常温运输，2 ~ 8℃ 保存，不可冷冻。

产品概述

YALEPIC® mRNA Transfection Reagent-LFMR 是一款针对 mRNA 递送的专用转染试剂，可用于 mRNA 在多种贴壁及悬浮细胞中的转染，直接将 mRNA 传递到细胞质中进行表达，避免了转录调控作用及进入细胞核的限制，也适用于短期蛋白表达的相关研究。本产品具有不受血清影响、毒性低、稳定性好、转染简单易行、重复性好等优点。

适用范围

适用于多种贴壁或悬浮细胞株的 mRNA 转染。对原代细胞、巨噬细胞、干细胞以及神经细胞等难转细胞均具有较高的转染效率。

自备试剂及仪器

1. 细胞接种：细胞培养基，FBS，胰酶，血球计数板，细胞培养板等；
2. 转染复合物的形成：Opti-MEM 或其它无血清、无双抗细胞培养基，EP 管等；
3. 其他：PBS，移液器，移液管，15 ml 离心管，T-75 细胞培养瓶，CO₂ 细胞培养箱等。

实验准备及注意事项

1. 操作环境及操作过程中使用的试剂、耗材均需无菌、无 RNase 污染，以免影响正常的转染效果。
2. mRNA 原液不使用的时候需要放置在 -80℃ 冰箱，避免降解。
3. 每次使用之前务必颠倒混匀试剂，观察试剂为澄清即可用。

6. 应避免转染复合物形成的反应体系中存在血清。
7. 转染实验全程缓慢轻柔操作,尤其在试剂稀释及混合的操作时,使用移液器轻轻吹打 10 ~ 20 次,确保充分混匀。
8. 建议进行 mRNA 转染时,转染试剂 (μl) : mRNA (μg) 可以在 2 : 1 和 5 : 1 之间调整。

实验流程

● mRNA 转染

以 24 孔板为例,步骤如下:



细胞接种: 转染前 24 h 左右对细胞进行接种,接种密度约为 $0.5 \sim 1.0 \times 10^5$ cells/well,过夜培养 (12 ~ 24 h) 。

质粒稀释:

复合物制备：将 **LFMR-Opti-MEM** 滴加至 **mRNA-Opti-MEM** 中，用移液器轻轻混匀，室温静置 10 ~ 20 min 后可用于转染。**注：**形成的转染复合物溶液尽量在 30 min 内使用。

细胞转染：

1) 将转染复合物混合液滴加至培养基中，轻轻晃动培养皿，均匀分散。一般情况下无需更换培养基。

注：如有特殊需要，可在转染开始之前更换新鲜的完全培养基，避免转染后培养细胞密度过大、营养不足导致细胞死亡。

2) 37°C 过夜培养 18 ~ 48 h。一般情况下无需更换培养基。如转染后需要更换新鲜培养基，请在培养 6 ~ 12 h 后更换。

3) 收取细胞进行后续实验。

● mRNA 转染优化方案

为达到高转染效率和低细胞毒性的最佳效果，可通过改变细胞密度、mRNA 浓度以及转染试剂浓度对转染进行优化，保证细胞融合度在 60 ~ 80% 以上。LFMR (μl) : mRNA (μg) 剂量可以在 2 : 1 和 5 : 1 μl 之间进行调整。

细胞培养板	单孔面积	培养基用量		mRNA 转染	
		接种培养基用量	稀释培养基用量 Opti-MEM	mRNA	LFMR
96-well	0.3 cm ²	200 μl	2 x 5 μl	0.2 μg	0.4 ~ 1 μl
24-well	2.0 cm ²	500 μl	2 x 10 μl	0.4 μg	0.8 ~ 2 μl
12-well	4.0 cm ²	1 ml	2 x 20 μl	1.0 μg	2 ~ 5 μl
6-well	10 cm ²	2 ml	2 x 50 μl	2 μg	4 ~ 10 μl
60 mm	20 cm ²	5 ml	2 x 100 μl	4 μg	8 ~ 20 μl
10 cm	60 cm ²	15 ml	2 x 300 μl	12 μg	24 ~ 60 μl
T25	25 cm ²	6 ml	2 x 150 μl	10 μg	20 ~ 50 μl
T75	75 cm ²	20 ml	2 x 300 ml	30 μg	60 ~ 150 μl

表 1: mRNA 转染优化推荐表

LFMR (μl) : mRNA (μg) 剂量可以在 2 : 1 和 5 : 1 μl 之间进行调整。

2. 转染时细胞密度不合适。

细胞密度过低导致细胞生长缓慢，对外来刺激变得较为敏感，使得转染毒性增高。细胞密度过高，会导致细胞发生接触抑制，加快细胞凋亡。细胞融合度达到 60 ~ 70% 时，转染可以取得较高的转染效率。可预实验优化细胞转染密度。

3. 转染体系中存在抑制因素。

当转染体系中存在多聚阴离子聚合物时(例如：硫酸葡聚糖、肝素等)，转染将无法正常进行，因此应避免上述物质存在于细胞转染体系中。

4. 细胞状态差。

应尽量使用适度传代接种的细胞系，并尽量在平行实验时保持细胞传代次数的一致性，同时需避免细胞培养时间过长。

5. 细胞毒性高。

可能是如下两个原因造成的：1) 细胞状态不好，参看第 4 条进行优化。2) 转染效率太高，毒性由高转染效率带来。可通过调整试剂和基因的比例来降低细胞毒性，适量减少转染试剂的用量，可以降低复合物颗粒表面过量的正电荷从而降低细胞毒性。转染效率高导致的细胞毒性大并不影响蛋白的生产，可以继续对蛋白产量进行监控。

6. 转染效果不稳定

转染效果稳定性取决于转染试剂的稳定性和基因的稳定性。转染试剂应按照说明书建议的保存温度及条件进行保存。基因如短时间内连续使用，可放置于 4℃ 保存。若超过 10 天不使用，建议置于 -20℃ 或 -80℃ 长期储存以降低核酸的降解速度。