



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°C 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 原液不使用的時候需要放置在 -80°C 冰箱，避免降解。
3. 每次使用之前務必颠倒混匀试剂，观察试剂为澄清即可用。
4. 可通过改变细胞密度、mRNA 浓度以及转染试剂用量对转染进行优化。

5. 转染时尽量选用同样的接种比例, 以提高实验重复性。(注: 不同细胞系的细胞密度不同, 细胞密度会直接决定转染效率, 建议在细胞融合度达到 60 ~ 70% 时进行转染)
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:

1) 在 1.5 ml 无菌 EP 管中加入 10 μl Opti-MEM, 并添加适量的 mRNA (表 1), 用移液器轻轻混匀。



2) 在 1.5 ml 无菌离心管中加 10 μ l Opti-MEM 无血清培养基, 并添加适量的 LFMR (表 1), 用移液器轻轻混匀, 静置 5 min。

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 (μ l) : mRNA (μ g) 剂量可以在 2 : 1 和 5 : 1 μ l 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 μ l	2 x 5 μ l	0.2 μ g	0.4 ~ 1 μ l
24-well	2.0 cm ²	500 μ l	2 x 10 μ l	0.4 μ g	0.8 ~ 2 μ l
12-well	4.0 cm ²	1 ml	2 x 20 μ l	1.0 μ g	2 ~ 5 μ l
6-well	10 cm ²	2 ml	2 x 50 μ l	2 μ g	4 ~ 10 μ l
60 mm	20 cm ²	5 ml	2 x 100 μ l	4 μ g	8 ~ 20 μ l
10 cm	60 cm ²	15 ml	2 x 300 μ l	12 μ g	24 ~ 60 μ l
T25	25 cm ²	6 ml	2 x 150 μ l	10 μ g	20 ~ 50 μ l
T75	75 cm ²	20 ml	2 x 300 ml	30 μ g	60 ~ 150 μ l

表 1: mRNA 转染优化推荐表



常见问题与解决方案

1. LFMR 与 mRNA 的比例不合适。

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°C 保存。若超过 10 天不使用, 建议置于 -20°C 或 -80°C 长期储存以降低核酸的降解速度。