

Rfect mRNA 转染试剂盒

货号: T1058

储存: -20℃避光保存, Trans buffer 可保存于 2-8℃, 有效期一年, 使用前请先将本品轻轻混匀。

1. 产品简介:

Rfect mRNA Transfection Reagent 是专门用于 mRNA 高效转染的转染试剂。Rfect mRNA 具有非常卓越的转染性能, 可高效转染绝大多数贴壁细胞和部分悬浮细胞, 转染效率在贴壁细胞中可高达 90%以上 (AAV293 细胞等)。与目前市场上常见的脂质体转染试剂不同, Rfect mRNA 转染试剂采用生物可降解材料配制, 对细胞的毒性很低, 转染后细胞死亡率只有 5%左右。Rfect mRNA 使用也非常方便, 先将转染试剂与 mRNA 混合, 再将转染试剂-mRNA 复合物直接加入培养细胞中, 血清不影响其转染效果, 不必刻意添加或更换培养液, 操作十分简便。

2. Rfect mRNA 转染试剂的特点:

卓越的细胞转染性能: 可高效转染绝大多数贴壁细胞和部分悬浮细胞, 转染效率在贴壁细胞中可高达 90%以上;

极低的细胞毒性: 使用可降解生物材料, 细胞毒性低, 转染细胞死亡率只有 5%左右, 大大降低了因细胞毒性对实验结果的影响;

抗血清干扰, 可用于含血清培养基培养细胞的转染, 转染前后不需要更换培养液。

3. 注意事项:

- 转染时细胞生长状态应保持良好, 不要有支原体污染。
- 首次转染, 建议选择24孔板进行细胞密度优化实验, 如选择3个孔, 每孔分别接种 1.0×10^5 、 1.5×10^5 、 2.0×10^5 个细胞, 选择转染效果最优的细胞接种数进行正式实验。
- 应避免转染复合物制备体系中存在血清, 因血清会干扰Rfect与mRNA形成复合物, 转染所用培养基中尽量不要使用抗生素。
- 本试剂主要用于mRNA转染, 如需质粒DNA、mRNA、siRNA均可转染的试剂, 请选择其它核酸转染试剂。
- 转染试剂使用前请务必用移液器轻轻吹打混匀, 使用后, 请立即旋紧Rfect管盖, 尽快放于-20℃, 避光保存。

4. 适用细胞系:

293T, A549, B16F10, HEK 293, HeLa, Hepa 1-6, HepG2, BHK-21, BNL.CL2, BRL-3A, C2C12, C6, Clone 9, COS-1, COS-7, Daoy, DBTRG-05MG, DI-TNC1, DU 145, HLF-a, Huh-7, K562, KB, KLN 205, NCaP-FGC, MCF-7, MEL, Neuro-2a, NIH3T3, OVCAR3, PC3, PC-12, 4T1, ACNN, BJ, BT-549, CACO-2, H460, H9C2, HCT116, Hep-3B, Hs578T, HT-1080, MCF10A, MDA-MB-231, NCI-H23, PANC-1, RAW264.7, Saos-2, RD, SK-MEL-28, SK-OV-3 SW480, U2OS, Vero, 293F, BE(2)C, CHO-S, CV-1, HT-29, Jurkat, RKO, SK-BR3等。

5. 方法步骤 (以24孔板转染为例):

A. 细胞接种:

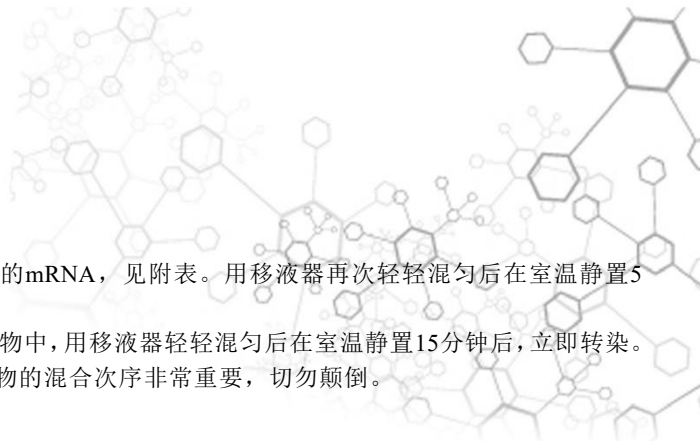
1. 转染前一天, 根据细胞密度优化结果对细胞进行转接, 24孔板一般接种细胞数为 1.5×10^5 左右, 培养基体积为0.5mL, 培养过夜;

2. 最好在转染开始之前更换新鲜的含血清培养基, 以防转染后孵育阶段细胞密度太大、营养不足导致细胞死亡。

B. Rfect /mRNA转染复合物制备(该步完成后应立即进行转染):

1. 在1.5 ml无菌离心管中加入50μl Trans buffer, 再加入适量的转染试剂, 见附表。用移液器轻轻混匀后在室温静置5分





2.在1.5 ml无菌离心管中加入50μl Trans buffer，再加入适量的mRNA，见附表。用移液器再次轻轻混匀后在室温静置5分钟。

3.将mRNA-Trans buffer混合物滴加至RFect-Trans buffer混合物中，用移液器轻轻混匀后在室温静置15分钟后，立即转染。

注意：RFect-Trans buffer混合物和mRNA-Trans buffer混合物的混合次序非常重要，切勿颠倒。

注意：离心管最好使用聚丙烯离心管。

C.转染:

1.将步骤B制备的转染复合物滴加至培养基中，边加边轻轻晃动培养板以使复合物均匀分布。加完后，立即将培养板转入培养箱继续培养。

2.培养6小时后即可观察标记荧光，表达蛋白检测时间一般为24~60小时，最佳荧光观察时间或蛋白检测时间需实验确定。

3.RFect在完全培养基中仍有较高的转染效率，因此转染前后不需要换成无血清或低血清培养基。如果转染后需要更换新鲜培养基，请于加入RFect/mRNA复合物12~24小时后进行。

附表：不同培养体系推荐初始转染条件

| 培养皿 | | 96 孔板 | 48 孔板 | 24 孔板 | 12 孔板 | 6 孔板 | 10cm 皿 |
|---------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|------|--------|
| 表面积 (cm ²) | | 0.35 | 1.0 | 1.9 | 3.8 | 9.6 | 59 |
| Trans buffer、试剂、mRNA 量 | Trans buffer(μl) | 25 | 50 | 100 | 200 | 300 | 1000 |
| | RFect (μl) | 0.6 | 1.2 | 2.5 | 5.0 | 10 | 50 |
| | 1 μg/μl mRNA (μl) | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 4.0 | 20 |
| 完全培养基(ml) | | 0.10 | 0.25 | 0.50 | 1.0 | 2.0 | 10 |

