

riboFECT™ mRNA 转染试剂使用说明

RN: R12003.2

产品简介

riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 是一种专门用于长链 RNA 分子的转染试剂，极具生物相容性，转染效率高，细胞毒性小，适合各种长链 RNA 分子（如 mRNA，lncRNA 等）的转染实验，可转染的长链 RNA 长度达 4kb，已经成功实现了几十种细胞类型的高效转染，包括原代细胞、干细胞等难以转染的细胞类型。该转染试剂的最大特点是低毒、高效，转染时无需进行培养基更换操作，方便，快速。

表 1 试剂盒成分组成

试剂组分	C11055-1	C11055-2	C11055-3
	100T	500T	2500T
riboFECT™ mRNA Transfection Reagent	75μL	375μL	375μL X 5
Nuclease-free Water	1 mL	1 mL	1 mL X 5

注：上表中使用次数均以 24 孔板用量计算。

运输保存

产品为**常温运输**。

收到产品后，请于 **2-8℃** 保存，可以稳定保存一年。

使用前请**瞬时离心**。

使用方法

转染方法

以riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 转染EGFP mRNA于24孔板，转染量为500ng为例，其他规格转染体系请参考表2。

1. 接种细胞

转染前一天将细胞铺至24孔板，培养基体积500μL，使转染时的细胞密度能够达到70~90%。

注：①不同细胞生长速度不同，接种细胞的数量，细胞密度需要依据细胞类型，培养时间，实验目的而定；

②每孔接种的细胞数量应尽量相同，使细胞均匀分布。

2. 转染

对于每个转染样品，请按以下步骤准备：

- 稀释转染试剂：25μL Opti-MEM™ Medium (v1) 中加入 0.75μL riboFECT™ mRNA Transfection Reagent (v2)，轻轻混匀，室温孵育 10min。
 - 稀释 EGFP mRNA：25μL Opti-MEM™ Medium (v1) 中加入 1μL EGFP mRNA (500ng/μL) (v3)，轻轻混匀。
 - 将稀释转染试剂与稀释 EGFP mRNA 混合，室温孵育 5min。
 - 将 50μL riboFECT™ mRNA 转染混合液，加入到 450μL 细胞培养基 (v4) 中，轻轻混匀。
- 注：riboFECT™ mRNA 转染复合物加入至原细胞培养基中一般无需移除或更换，但亦可依据具体实验情况进行优化。
- (可选) 进行其他必要的特殊处理 (如加药处理等)。
 - 将培养板置于 37℃ 的 CO2 培养箱中培养 24h-48h。

表 2 使用 riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 转染 mRNA 用量参考

v1: Opti-MEM™ Medium; v2: riboFECT™ mRNA Transfection Reagent; v3: mRNA; v4: 细胞培养基

	每孔体积	mRNA 终浓度	Opti-MEM™ Medium (v1)	Transfection Reagent (v2)	mRNA (v3)	培养基 (v4)
96-well	100 μL	1 μg/mL	10 μL	0.15 μL	100 ng	90 μL
24-well	500 μL	1 μg/mL	50 μL	0.75 μL	500 ng	450 μL
12-well	1 mL	1 μg/mL	100 μL	1.5 μL	1 μg	900 μL
6-well	2.5 mL	1 μg/mL	250 μL	3.75 μL	2.5 μg	2.25 mL

*: 实验参考用量示例，对于部分细胞类型需要进一步优化。

3. 效果检测：

转染锐博生物 EGFP mRNA，一般转染 2h 后，即可观察到 30%-40% 细胞表达 EGFP 蛋白，转染 24h 后，可通过荧光显微镜或流式细胞仪进行转染效率检测。

- RNA 水平的检测：mRNA 很容易降解，故需帽结构和 polyA 尾以保证其稳定性，否则 6h 内就会降解掉。对于相对不稳定的 mRNA，建议转染后 6h 通过 qPCR 检测 mRNA 表达变化，对于相对稳定的 mRNA 建议转染后 24-48h 后检测 mRNA 表达变化。
- 蛋白水平的检测：对于蛋白编码基因，可通过 WB 等方法检测相应的蛋白表达水平变化。蛋白表达水平的变化受 mRNA 稳定性等多种因素影响，一般持续表达数小时，甚至 1-3 天，建议根据具体实验情况选择合适的时间点检测蛋白表达。

实例：

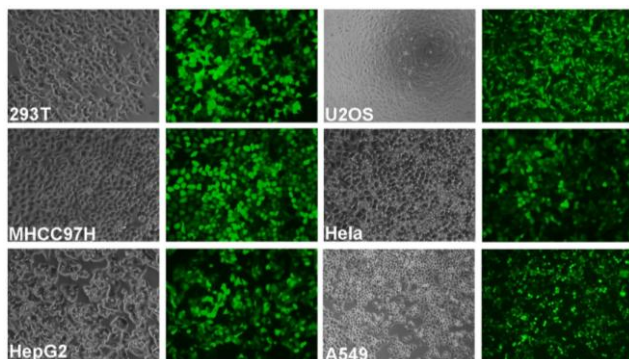


图 1 riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 具有高效的转染效率。

293T, MHCC97H, HepG2, U2OS, HeLa, A549 细胞用 riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 转染 500ng EGFP mRNA, 24h 后荧光显微镜观察 EGFP 蛋白表达。

相关产品：

表 3 相关产品

产品编号	产品名称
C11062-1	riboFECT™ mRNA Transfection Control(EGFP)

1. mRNA 转染与 DNA 转染相比，有哪些优势？

答：（1）DNA 转染需要进入细胞核，对于快速分裂的细胞才能达到理想的转染效果，而 mRNA 转染只需进入细胞质，可大大提高有丝分裂后细胞或缓慢分裂细胞的转染效率。

（2）没有转录过程，蛋白表达更快速，缩短实验周期。

（3）更加安全，无 DNA 整合风险。

2. 如何用 riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 转染 Cas9 mRNA 和 sgRNA 进行基因编辑？

答：riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 适用于转染 mRNA， lncRNA， CRISPR sgRNA 或 crRNA/tracrRNA， siRNA， miRNA， 小于 1kb 的双链 DNA 或 HDR 模板。尤其适用于 Cas9 mRNA 和 crRNA/tracrRNA 共转染进行基因编辑， 转染步骤请参照“riboEDIT™ CRISPR-Cas9 体系使用说明”实验方法部分“riboEDIT™ CRISPR/Cas9 mRNA 操作说明”。当利用 CRISPR 进行基因敲入，需自行优化 Cas9 mRNA， crRNA/tracrRNA 及 HDR 模板共转染体系，以获得最佳效果。

3. 转染过程中，细胞培养基内能否含有血清及双抗？

答：riboFECT™ mRNA Transfection Reagent 是一款低毒、高效的转染试剂，血清的存在会影响转染复合物的形成，请确保在孵育转染复合物时使用的是无血清培养基。孵育结束后，转染复合物可直接加入含有或不含有血清/双抗的细胞培养基中，无需更换培养基，操作简便。