



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 保存一年，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。