

Meilunbio®原代巨噬细胞专用转染试剂

产品编号: MA3001

规格: 200μL/1mL

产品内容

产品组成	MA3001-1	MA3001-2
Meilunbio®原代巨噬细胞专用转染试剂	200μL	1mL
说明书	1 份	1 份

产品简介

Meilunbio®原代巨噬细胞专用转染试剂是一款美仑生物全栈自研的新型核酸转染试剂。经在小鼠原代巨噬细胞（BMDM）上的多次测试，其效果达到甚至超过了目前主流转染试剂，完美适配原代巨噬细胞的 mRNA 转染需求，并且血清和抗生素兼容，有利于维持细胞的最佳状态。

本产品使用非常简便，无需对转染试剂进行稀释：可将计算量转染试剂直接加入到核酸稀释液中，孵育 10-15 分钟即可加样。

本产品为 BMDM 细胞转染专用试剂。

本产品为无菌溶液。一般条件下24孔板转染，每次使用约1μL，则1mL规格可做约1000次转染。

使用说明

1. 小鼠原代巨噬细胞由骨髓中提取、于培养皿中诱导培养7天后，开始转染工作；
2. 细胞换液，使用等体积新鲜完全培养基置换部分细胞原有上清（正常含血清和抗生素的完全培养基）；
3. 参考表1，使用Optimal-MEM培养基（美仑货号：PWL041或PWL042）稀释mRNA，移液枪轻轻吹打混匀，得到mRNA稀释液；
4. 随后，直接向mRNA稀释液中加入计算量的转染试剂（无需Optimal-MEM再稀释），移液枪轻轻吹打混匀；
5. 室温静置孵育10-15分钟；
6. 将转染试剂/mRNA复合物逐滴加至细胞上清，轻摇混匀；
7. 继续培养约12-48小时后，可通过荧光显微镜、流式细胞仪、Western Blot、ELISA法或报告基因检测法对转染效果进行表征。

表1. 不同细胞培养器皿中mRNA及转染试剂用量参考表（仅供参考）

操作步骤		96-well	48-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
①	Optimal-MEM 培养基	5μL	12.5μL	25μL	50μL	125μL	250μL	500μL
②	mRNA	0.1μg	0.25μg	0.5μg	1μg	2.5μg	5μg	15μg
③	转染试剂	0.2μL	0.5μL	1μL	2μL	5μL	10μL	30μL
加入 mRNA 后轻吹打混匀，加入转染试剂后轻吹打混匀，室温孵育 10-15 分钟即可使用。								
④	每孔复合物加入量	5μL	12.5μL	25μL	50μL	125μL	250μL	500μL
	按上述用量，每孔均匀滴加复合物，放回培养箱直接继续培养，通常无需换液。							



保存条件

-20℃，自生产之日起 12 个月有效。建议第一次使用时按照每次实验所需量进行分装保存。若短期使用，可保存于 2~8℃，5 个月有效；若想长期保存，可置于-80℃，24 个月有效。

注意事项

- 1、本产品的推荐用量： $\text{mRNA/转染试剂}=1:2$ ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)，但转染试剂使用量受细胞状态及其他实验因素影响，建议初次使用时可固定 mRNA 用量（如：24 孔板，推荐 500ng），在 $\text{mRNA/转染试剂}=1:0.5\sim 1:7$ ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) 的范围内，设置转染试剂用量梯度，以筛选出最佳转染用量。
- 2、mRNA 的初始储备浓度宜控制在 0.5-5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 范围内。
- 3、原代巨噬细胞的生长、贴壁状态非常影响转染效率！请务必选择 6-8 周龄健康实验小鼠进行骨髓细胞提取，并选择高纯度 M-CSF 对提取细胞进行诱导，建议直接在拟使用的孔板内（如：24 孔板）进行细胞诱导处理，待细胞生长至合适状态后换液即可使用（细胞消化会影响转染效果，不建议消化后铺板再转染）。
- 4、选择同一批次小鼠、合并多只小鼠的原代巨噬细胞可降低摄取差异造成的风险，提高转染成功率。
- 5、细胞培养基的 pH 值偏低（颜色偏黄），会显著影响转染效果；如若此时不好完全换液，可选择半数换液法：即吸走一半上清，补加一半完全培养基。
- 6、请务必保证原代骨髓细胞提取过程保持无菌状态。
- 7、本产品为无菌包装，无需过滤，请注意无菌取用。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Y251001

