

## ABKEasyFect 细胞转染试剂

### 产品信息

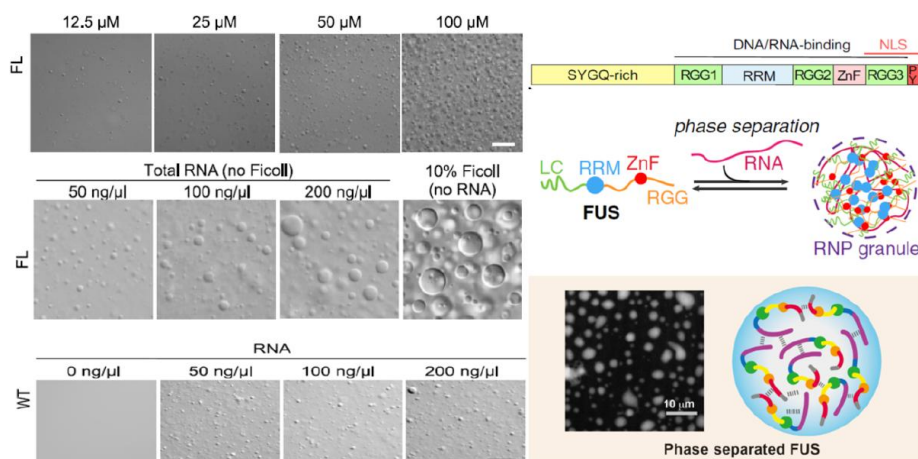
产品组成	ABK0038CS (100 $\mu$ L)	ABK0038C (0.5 mL)	ABK0038LC(1 mL)
EF-I	450 $\mu$ L	2.5 mL	5 mL
EF-II	80 $\mu$ L	500 $\mu$ L	1 mL
EF-III	150 $\mu$ L	900 $\mu$ L	1.8 mL
CopGFP-mRNA	5 $\mu$ g		

### 产品存储

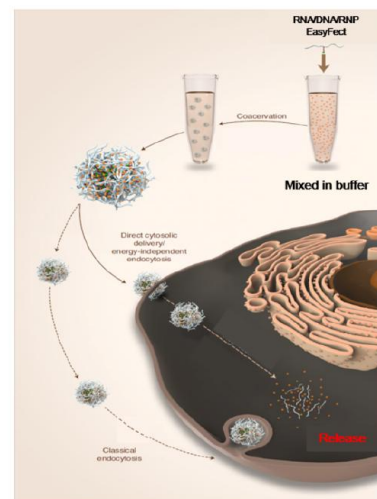
-20  $^{\circ}$ C 下可稳定保存至少 12 个月。-80 $^{\circ}$  C 可长期保存（避免反复冻融）

### 产品简介

ABKEasyFect 是基于内源多肽液液相分离（LLPS）形成纳米颗粒的核酸或蛋白递送系统，已在数十种细胞上（包括原代细胞、免疫细胞等难转染细胞系）被验证能够递送外源 RNA、DNA、CRISPR-RNP 等进入细胞。其主要成分为工程化改造的细胞内源蛋白固有无序区域 (intrinsically disordered regions, IDRs)，在一定条件下诱发相变可形成包裹核酸或蛋白的液滴状凝聚物，该凝聚物容易被细胞内吞而达到递送核酸或蛋白的目的。



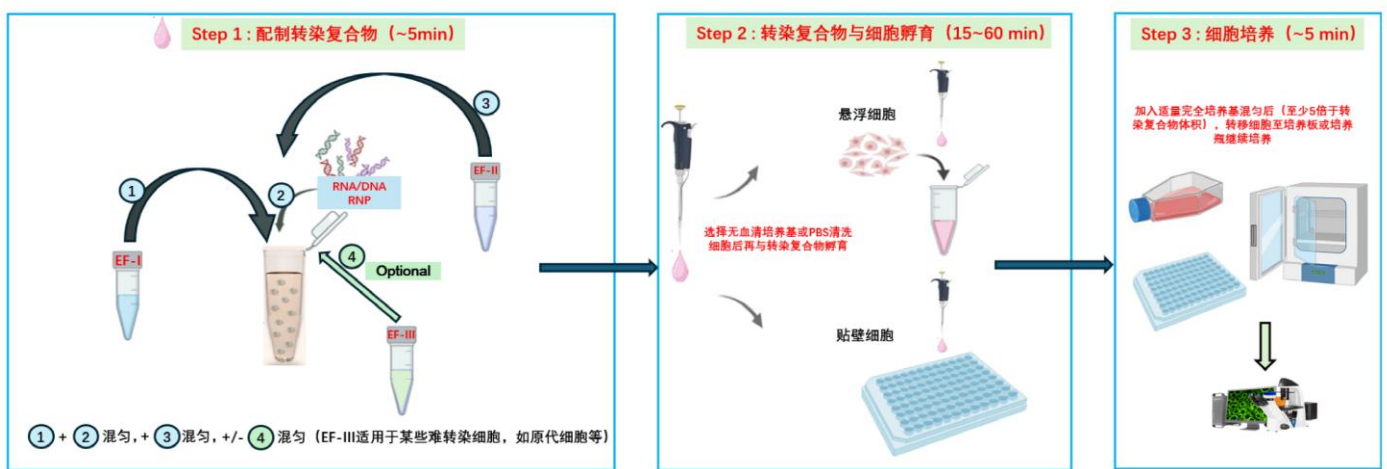
(Yang et al., 2020, Cell; Hofweber et al., 2018, Cell; Monahan et al., 2017, The EMBO Journal; Yoshizawa et al., 2018, Cell)



(Adapted from Sun et al., 2022, Nature Chemistry)

ABKEasyFect 细胞转染试剂盒操作简便，转染效率高，尤其是能高效递送多种形式RNA（mRNA、shRNA、siRNA 等），几乎无损细胞。对于部分细胞系，目前不推荐使用EasyFect 递送质粒DNA，如A549、THP-1、Raji、Ishikawa、MET-5A、NK92、KYSE-510、Mum2B、TMD8、Kasumi-1、HL-60、HFF、HGC-27、U251MG、MEC25、GC-2、MC38、RAW264.7、CH12、MH-S、3T3、OLN93、Pan02 等。EasyFect 经验证在HEK293(293T、293F 等)、Hela、Jurkat、K562、LX-2、HepG2、H1-hESC、5637、SH-SY5Y、Neuro 2A、LLC、C2C12、MEF 等人或小鼠细胞系上可递送质粒DNA（但转染效率相对于RNA 普遍低 25%-75%）。

## 实验步骤



转染前尽可能保持细胞活率 >90%，生长状态良好。

**悬浮细胞系的转染方法**（以下方案适用于转染2~20万个细胞/处理；贴壁细胞系使用此方法可获得更高的转染效率并可节省转染试剂，即在转染当日将细胞消化为单细胞悬液，后续操作流程与悬浮细胞一致）：

- 1) 取待转染细胞，300 g 离心 2 分钟，弃去上清后以PBS或 Opti-MEM（或其他无血清培养基，以免降低转染效率）重悬细胞沉淀，再次离心。最终用 Opti-MEM（或其他无血清培养基）重悬并调整细胞浓度至  $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$  cells/mL 备用。
- 2) 在 40  $\mu$ L EF-I 中加入 0.5  $\mu$ g mRNA（或 0.4  $\mu$ g DNA，或 40 pmol siRNA 或 5 pmol Cas9-RNP——Cas9蛋白与 sgRNA 无需孵育，可同时添加），充分混匀。
- 3) 向上述混合液中加入 8  $\mu$ L EF-II，涡旋混匀 10 秒（或使用移液枪吹打约15次）。对于某些细胞系（如A549、K562、3T3、原代细胞等），可尝试往上述混合物中加入8~13.5  $\mu$ L EF-III 混匀，可提高转染效率。
- 4) 将 3) 中配好的转染体系与 20  $\mu$ L 细胞悬液在 1.5 mL 离心管中混合后（移液枪吹打约15次），37  $^{\circ}$ C 孵育15-120min（原代细胞不超过 1 小时，常规细胞系不超过 2 小时）。
- 5) 加入250  $\mu$ L 完全培养基（约5倍转染复合物体积的5倍）混匀，300 g 离心 2 分钟，小心吸弃含转染复合物的上清（可留少量液体）。
- 6) 补加适量完全培养基（如使用96孔板，每个转染孔补加100  $\mu$ L 完全培养基），转移细胞到96孔板

或其他规格的培养容器进行培养。

**贴壁细胞系的转染（以下方案适用于96孔板/48孔板/24孔板转染）：**

- 1) 转染前汇合率应保持在 50%-80%。弃去培养基后，用 PBS 或 Opti-MEM（或其他无血清培养基）轻柔清洗细胞1-2次，加入 20  $\mu$ L Opti-MEM（或其他无血清培养基）备用。
- 2) 在 40  $\mu$ L EF-I 中加入 0.5  $\mu$ g mRNA（或 0.4 $\mu$ g DNA，或40 pmol siRNA，或 5 pmol Cas9-RNP—Cas9蛋白与 sgRNA 无需孵育，可同时添加），充分混匀。
- 3) 向上述混合液中加入 8  $\mu$ LEF-II，涡旋混匀 10 秒（或使用移液枪吹打 20–30次）。对于某些细胞系（如A549、K562、3T3、原代细胞等），可尝试往上述混合物中加入8~13.5  $\mu$ L EF-III 混匀，可提高转染效率。
- 4) 将 3) 中配好的转染体系加入贴壁细胞中，37  $^{\circ}$ C孵育 15-120min（原代细胞不超过1 小时，常规细胞系不超过 2 小时）。
- 5) （可选步骤）小心吸弃含转染复合物的上清（可留少量液体）。
- 6) 补加适量完全培养基进行培养（如96孔板加0.1 mL，48孔板加0.25 mL，24孔板加0.5 mL）。

**不同转染体系参考：**

培养器皿	细胞量/万	培养体积	DNA/mRNA/siRNA/RNP	EF-I	EF-II	EF-III(可选)
96 孔板	2~6	100 $\mu$ L	0.4 $\mu$ g/0.5 $\mu$ g/40 pmol/5 pmol	40 $\mu$ L	8 $\mu$ L	10 $\mu$ L
48 孔板	6~18	250 $\mu$ L	0.4 $\mu$ g/0.5 $\mu$ g/40 pmol/5 pmol	40 $\mu$ L	8 $\mu$ L	10 $\mu$ L
24 孔板	12~36	500 $\mu$ L	0.4 $\mu$ g/0.5 $\mu$ g/40 pmol/5 pmol	40 $\mu$ L	8 $\mu$ L	10 $\mu$ L
12 孔板	24~72	1 mL	0.8 $\mu$ g/1 $\mu$ g/80 pmol/10 pmol	80 $\mu$ L	16 $\mu$ L	20 $\mu$ L
6 孔板	60~180	2 mL	1.6 $\mu$ g/2 $\mu$ g/160 pmol/20 pmol	160 $\mu$ L	32 $\mu$ L	40 $\mu$ L

附：常用多孔板和培养皿的尺寸、培养面积、细胞培养量和推荐的培养体积等相关数据表：

Multiple Well Plates or Dishes	Single Well Only for Plates					
	Diameter (Bottom, mm)*	Growth Area (cm <sup>2</sup> )*	Average Cell Yield	Total Well Volume (ml)	Working Volume (ml)	Recommended Volume (ml)
6 well	34.8	9.5	9.5 $\times$ 10 <sup>5</sup>	16.8	1.9-2.9	2
12 well	22.1	3.8	3.8 $\times$ 10 <sup>5</sup>	6.9	0.76-1.14	1
24 well	15.6	1.9	1.9 $\times$ 10 <sup>5</sup>	3.4	0.38-0.57	0.5
48 well	11.0	0.95	9.5 $\times$ 10 <sup>4</sup>	1.6	0.19-0.285	0.25
96 well	6.4	0.32	3.2 $\times$ 10 <sup>4</sup>	0.36	0.10-0.20	0.1
384 well	2.7	0.056	5.6 $\times$ 10 <sup>3</sup>	0.112	0.025-0.050	0.030
1536 well	1.63 $\times$ 1.63**	0.025	2.5 $\times$ 10 <sup>3</sup>	0.0125	0.005-0.010	0.010
3.5cm dish	34	9	9.0 $\times$ 10 <sup>5</sup>	NA	1.8-2.7	2
6cm dish	52	21	2.1 $\times$ 10 <sup>6</sup>	NA	4.2-6.3	5
10cm dish	8.4	55	5.5 $\times$ 10 <sup>6</sup>	NA	11-16.5	12
15cm dish	14	152	1.5 $\times$ 10 <sup>7</sup>	NA	30.4-45.6	35
24.5cm dish	22.4 $\times$ 22.4**	500	5.0 $\times$ 10 <sup>7</sup>	NA	100-150	120

\*Diameter and growth area may vary depending on the manufacturer, and the listed sizes are from Corning.

\*\*These wells or dishes are square.