

HepG2 细胞

1. 实验名称

CALNP™ mRNA in vitro 转染试剂的转染效率结果

2. 实验仪器

细胞培养箱
倒置显微镜
超净工作台
离心机
荧光酶标仪

3. 实验试剂

HepG2 细胞培养液
双抗
CALNP™ mRNA in vitro 转染试剂
Firefly Luciferase mRNA
Bio-Lite Luciferase Assay System

4. 实验过程

3.1. 细胞培养

采用 HepG2 细胞培养液，1%(v/v)双抗，5% CO₂，37 °C 恒温培养箱。细胞长到 90%，传代，将培养液弃掉，加入 PBS 洗一遍，加入胰酶，消化 5 分钟，吹打下来转移至 EP 管中，加入 1ml 培养液，离心，1000g/min，离心 5 分钟，弃掉上清，加入 1ml 培养液，吹打混合均匀，按照 1/3 传代。

3.2. 种板

按照每孔 0.1ml，1 万细胞/孔种于 96 孔板中，37°C 条件下培养 24h 后，细胞达到约 70% 满

3.3. mRNA-转染复合液配制

mRNA 溶液配制：mRNA 以水稀释至 1000 µg/mL

mRNA-转染复合液-100ng/孔：取无菌离心管，加入 2 µL mRNA 溶液，加入 CALNP™ mRNA in vitro 转染试剂 A 液 14 µL，吹打混匀，加入 CALNP™ mRNA in vitro 转染试剂 B 液 4 µL，吹打均匀，室温孵育 5 min，加细胞培养液 180 µL，吹打混匀。

mRNA-转染复合液-20ng/孔：取 mRNA-转染复合液-20ng/孔 50µL，置于无菌离心管中，加细胞培养液 200 µL，吹打混匀。

3.4. 加药

取配制好的 mRNA-转染复合液 10µL 加入各细胞孔中，摇动培养板，轻轻混匀。

3.5. 萤火虫荧光素酶表达检测

从培养箱中取出待测细胞培养板，室温放置 30 min，使培养板温度平衡至室温。

吸取 100 µl Bio-Lite™ 检测试剂加入 100 µl 加入各细胞孔中

室温放置 3 min 使细胞充分裂解，放入荧光酶标仪中进行检测

5. 实验结果

