ABKEasyFect 细胞转染试剂

产品信息

产品组成	ABK0038CS（10T）	ABK0038C（50T）	ABK0038LC(100T)
EF-I	450 μL	2.25 mL	4.5 mL
EF-II	80 μL	400 μL	800 μL
EF-III	150 μL	750 μL	1.5 mL

产品存储

－20 ℃

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%）。

产品特点

1. 新一代反转录酶大幅度提高了热稳定性和反转录效率。
2. 全预混的反转录Mix，只需一步同时加入gDNA Remover、模板RNA和水，实现cDNA 合成和去除基因组DNA同时进行。**15分钟**简单快速完成反转录。
3. RNA模板的体积最多可加到总体积的80%，本产品非常适合于低浓度RNA模板的逆转录反应。
4. 预混合Mix在-20°C不冻结，减少了化冻和混匀时间，使用更简单。
5. 本产品针对qPCR进行特别优化oligo dT和N6随机引物配比，使cDNA合成可从RNA转录本的各个区域起始并具有相同的反转录效率，最大程度保证了qPCR结果的真实性和可重复性。

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（贴壁细胞系使用此方法可获得更高的转染效率）：

1） 取待转染细胞，300 g 离心 5 分钟，弃去上清后以 Opti-MEM （或其他无血清培养基——血清会降低转染效率）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 1×106 –1×107 cells/mL 备用。

2）在 40 μL EF-I 中加入 0.5 μgmRNA（或 0.4μg DNA，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 μLEF-II，涡旋混匀 10 秒（或使用移液枪上下吹打 20–30次）。 ***对于某些细胞系（如A549、K562、3T3 等），可尝试往上述混合物中加入8~13.5 μLEF-III 混匀，可提高转染效率。***

4） 将 3）中配好的转染体系与 20 μL 细胞悬液在 1.5 mL 离心管中混合后，37 ℃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**）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（至少 250 μL），转移到 96 孔板或其他规格的培养容器进行细胞培养。

贴壁细胞系的转染（以 96 孔板转染为例）：

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）轻柔清洗细胞两次，加入 20 μL Opti-MEM（或其他无血清培养基）
备用。

2）在 40 μL EF-I 中加入 0.5 μgmRNA（或 0.4μg DNA，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 μLEF-II，涡旋混匀 10 秒（或使用移液枪上下吹打 20–30次）。 对于某些细胞系（如A549、K562、3T3 等），可尝试往上述混合物中加入8~13.5 μLEF-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 ℃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（至少 250 μL）进行培养。

ABKEasyFect 转染效果展示:

293F细胞转染EGFP mRNA

293F细胞转染EGFP 质粒DNA

Ishikawa细胞转染EGFP mRNA

ABKBio

已验证的部分细胞列表（持续更新中）：

细胞名称	可递送物质				添加EF-III
	pDNA	mRNA	siRNA	CRISPR RNP	
HEK293/293T/293F/Lenti-X293T	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Raji	No	Yes	Yes	Yes	No
Jurjat	Yes	Yes	Yes	Yes	No
NK-92MI/NK-92	No	Yes	Yes	Yes	No
K562	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
THP-1	No	Yes	Yes	Yes	No
Ishikawa	No	Yes	Yes	Yes	No
A549	No	Yes	Yes	Yes	Yes
Hela	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
SH-SY5Y	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Raw264.7	No	Yes	Yes	Yes	No
小鼠原代T细胞	No	Yes	Yes	Yes	Yes
小鼠原代B细胞	No	Yes	Yes	Yes	Yes
小鼠原代NK细胞	No	Yes	Yes	Yes	Yes
人原代T细胞	No	Yes	Yes	Yes	Yes
人原代B细胞	No	Yes	Yes	Yes	Yes
人原代NK细胞	No	Yes	Yes	Yes	Yes
iPSCs	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes