



GSPure® Circ-Fluc

产品简介

吉赛生物已建成 circRNA 原液生产体系，预制的 circRNA 标准品采用自主知识产权技术，完整性好、纯度高，可作为实验探索的阳性对照，用于翻译表达验证、转染递送评估、工艺流程优化等领域。

Circ-Fluc 是编码萤火虫荧光素酶基因（Luciferase）的 circRNA，翻译表达后，可通过实验检测萤火虫荧光素酶活性。

产品规格

产品名称	货号	性状	规格	浓度	溶剂
GSPure® Circ-Fluc	R0801	液态	100μg	1μg/μL	RNase-Free ddH ₂ O
	R0802		500μg	1μg/μL	
	R0803		1mg	1μg/μL	
	R0804		10mg	1μg/μL	

运输与保存

产品干冰运输。-80°C超低温保存，可以稳定存放一年。

注意事项

1. 请严格遵循 RNA 操作规则，实验过程中请戴好手套和口罩，避免外界因素导致产品降解；
2. 首次使用时，请将产品瞬时离心，可按需分装-80°C保存，尽可能避免多次反复冻融；
3. 实验过程中，请将本产品置于冰上使用。

使用方法

本实验方法以使用 Lipofectamine™ 2000 转染试剂于 24 孔板转染 1μg/μL circRNA 至 293T 细胞为例，其它规格转染体系请参考下表，使用其它转染试剂请参考具体转染试剂说明书。

1. 细胞铺板

转染前一天进行铺板，使每孔细胞汇合度达 30 ~ 40%，保证第二天细胞汇合度达 70 ~ 80%。

注：具体细胞数量根据细胞类型、大小及细胞生长速度等而定。



2. circRNA 转染

- (1) 转染前，用显微镜观察细胞汇合度达到 70 ~ 80% 时进行转染；
注：有些细胞在密度偏低时，容易出现细胞毒性，过稀或过密都可能影响转染效率；
- (2) 转染前，把培养有细胞的 24 孔板，每孔更换为 0.5mL 新鲜培养液（含有血清和抗生素的完全培养液）；
- (3) 参考表 1，取两个无酶无菌微量离心管，标记为 A 管和 B 管，分别往 A、B 管加入 25 μ L Opti-MEM Medium；在 A 管中加入 1.5 μ L Lipofectamine™ 2000 转染试剂用吸头吹打混匀；在 B 管中加入 0.5 μ g CircRNA 用吸头吹打混匀；将两管混合均匀，最后室温孵育 5min；
注：此步骤操作速度尽量快，请注意不可旋涡或离心；

表 1: 转染试剂参考用量

	细胞量	培养液	Opti-MEM™	circRNA 总量	Lipofectamine™ 2000
96-well	0.3 ~ 0.5 $\times 10^5$ 个/孔	0.1mL	10 μ L	0.1 μ g	0.3 μ L
24-well	1.2 ~ 1.4 $\times 10^5$ 个/孔	0.5mL	50 μ L	0.5 μ g	1.5 μ L
12-well	1.5 ~ 2.0 $\times 10^5$ 个/孔	1mL	100 μ L	1.0 μ g	3.0 μ L
6-well	2.0 ~ 3.0 $\times 10^5$ 个/孔	2mL	200 μ L	2.0 μ g	6.0 μ L

- 注：①尽可能现配现用，4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜会导致 RNA 降解，效果减弱；
②实际操作可视细胞状况做出适当用量调整；

- (4) 按照 24 孔板每孔 Lipofectamine™ 2000 转染试剂-circRNA 混合物的用量，均匀滴加到整个孔内，来回轻柔摇晃细胞培养板，每孔 circRNA 终浓度约为 1 μ g/mL；
- (5) 将细胞置于 37 $^{\circ}$ C 含 5% CO₂ 培养箱中培养。

注意事项

1. 转染前细胞必须处于良好的生长状态；
2. 转染混合物必须孵育 5min；
3. 转染混合物均匀滴加到每孔细胞；
4. 若转染后细胞培养天数大于 3 天，培养基颜色改变时请及时换液，建议每天换液；
5. 转染 RNA 后，对于贴壁细胞不建议用胰酶消化/传代，一旦细胞经过胰酶消化，对荧光酶报告基因的检测有一定影响，仅换液即可；
6. 本方案只针对 Lipofectamine™ 2000，不同的转染试剂按照对应的说明书执行。

实例

Circ-Fluc 能够在真核细胞中高效进行荧光素酶翻译。下图为 Circ-Fluc 和经假尿嘧啶修饰的 Fluc mRNA 分别转染 293T 细胞的案例。

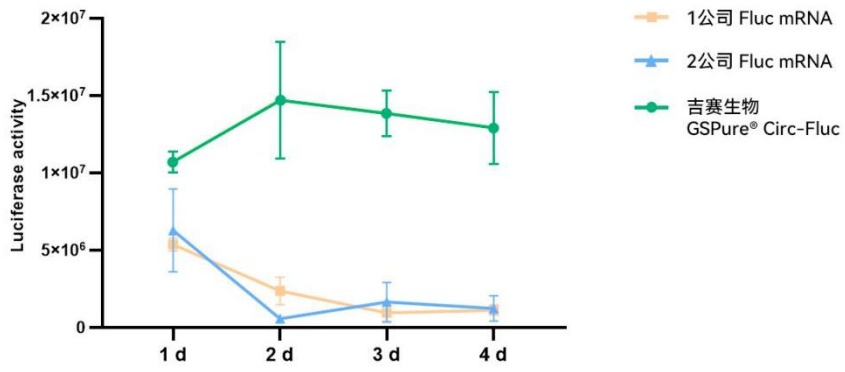


图 1: 转染 293T 细胞后 1~4 天荧光素酶检测结果。