

产品简介

InVivo ProteanFect® 体内递送试剂盒是 ProteanFect® 系列中专为体内核酸递送打造的创新产品。本品基于专有的生物分子凝聚体递送技术平台开发，利用凝聚体对核酸分子的天然包裹与防护特性，实现高装载量、卓越的组织递送效率以及极低细胞毒性。试剂盒可高效介导包括 mRNA 在内的多种核酸分子在体内的靶向递送与高水平表达。其无需任何复杂专用设备，操作简便、重现性高，是开展体内基因功能验证、核酸药物药效评估及作用机制研究的理想选择。

试剂盒组分与储存条件

InVivo ProteanFect® 体内递送试剂盒在干冰中运输，收到后应存放于 -20℃，直至使用。开封后，为确保试剂的最佳性能，需根据表 1 中的存储条件妥善保管各组分。

表 1 InVivoProteanFect® 体内递送试剂盒组分

成分	存储方式
Reagent A (PT51)	打开使用后，保存于 2-8℃
Reagent B (PT51)	保存于-20℃，避免反复冻融
Reagent C (PT51)	打开使用后，保存于 2-8℃*

*注：为保障试剂原有生物学活性，建议 Reagent C (PT51) 避免反复冻融，开封后 2-8℃保存，并在 1 个月内使用完毕。

实验前材料准备

转染试剂：于室温自然解冻，上下颠倒或涡旋至溶液完全均一后使用。

其他：待递送的目标 mRNA（溶解于无 RNase/DNase 水中）、无菌 PBS（pH 7.4）、无菌无核酸酶 EP 管、实验动物等。

InVivo ProteanFect® 体内递送试剂盒使用说明书

表 2 InVivo ProteanFect® (PT51) 复合物制备流程

以下步骤均以总体积 60 μ L、mRNA 投入量 10 μ g 的标准体系为例。

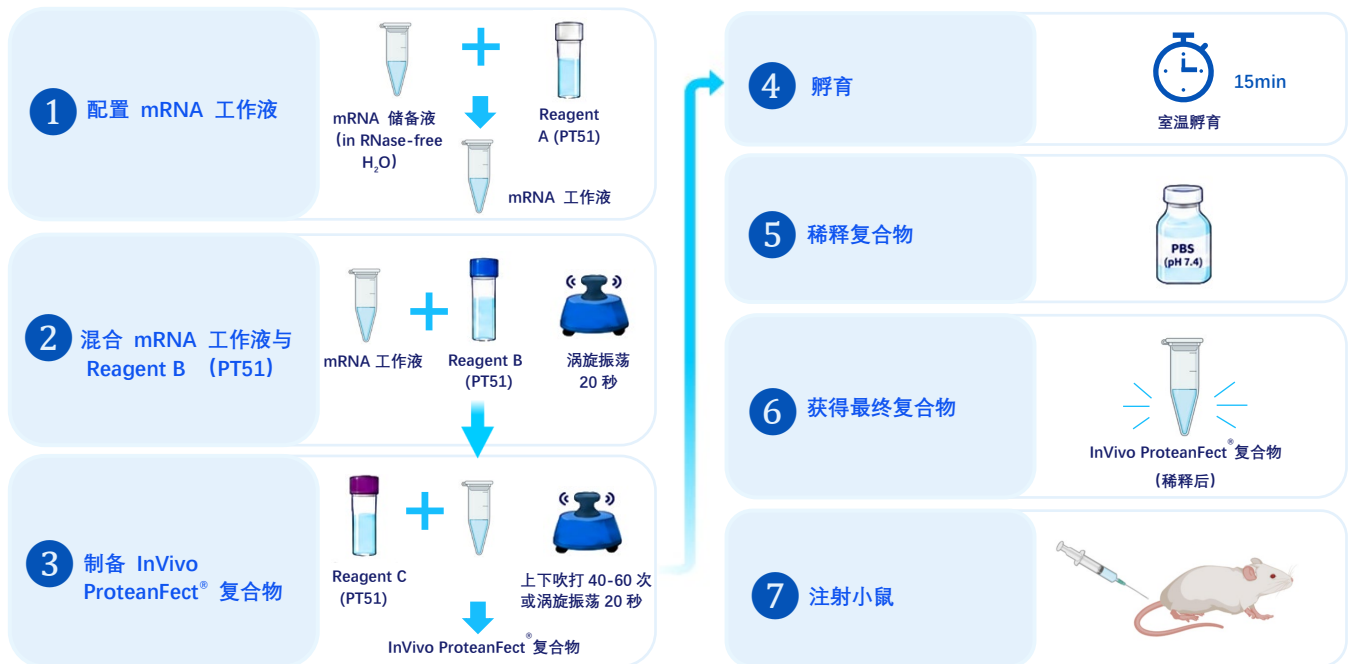
步骤	操作细节
1 配置 mRNA 工作液	将 10 μ g mRNA 溶液与 Reagent A (PT51) 充分混合，配制成总体积为 40 μ L 的 mRNA 工作液：
2 混合 mRNA 工作液与 Reagent B (PT51)	向 mRNA 工作液加入 1.7 μ L 的 Reagent B (PT51)，涡旋震荡 20 秒，使其充分混匀
3 制备 InVivo ProteanFect® 复合物	向步骤 2 所得混合液中加入 20 μ L Reagent C (PT51)，使用移液枪剧烈 ^a 上下吹打 40-60 次或高转速涡旋约 20 秒，将其充分混匀
4 孵育	室温孵育 15 分钟
5 稀释复合物 ^b	使用无菌 PBS (pH 7.4) 将 InVivo ProteanFect® 复合物稀释至所需给药浓度，轻柔混匀后置于冰上备用
6 注射小鼠 ^c	将配制好的 InVivo ProteanFect® 复合物进行体内给药（如尾静脉注射等），建议复合物于配制完成后 2 小时内使用完毕

a,吹打混匀要点：使用移液器吸取管内大部分液体后，进行快速、连续的上下吹打，确保液体完全悬浮与混匀；操作过程中请尽量避免引入气泡。

b,为获得最佳基因递送效率，经 PBS 稀释后的最终体积，建议至少为步骤 3 制备所得 InVivo ProteanFect® 体系体积的 2 倍。

c,当使用 Luciferase mRNA 作为报告基因进行体内递送时，建议小鼠给药剂量不低于 5 μ g/只（约相当于 0.25 mg/kg）。

InVivo ProteanFect® (PT51) 制备流程示意图



提示：示意图为标准操作流程，具体浓度 用量及稀释倍数请参考说明书正文（以 10 μ g mRNA/60 μ L 体系为例）

数据分享

使用 InVivo ProteanFect® (PT51) 体内递送试剂盒对 6 周龄的 C57BL/6 小鼠进行 luciferase mRNA 体内递送，给药量为 5 μg /只。在尾静脉注射 18 小时后，对小鼠腹腔注射 100 μL D-荧光素钾盐溶液（15 mg/mL，溶于 PBS）10 分钟后，采集小鼠器官，使用小动物活体成像系统（Biospace, Optima）对其进行观察（图 1.A）与荧光信号强度的统计（图 1.B）。

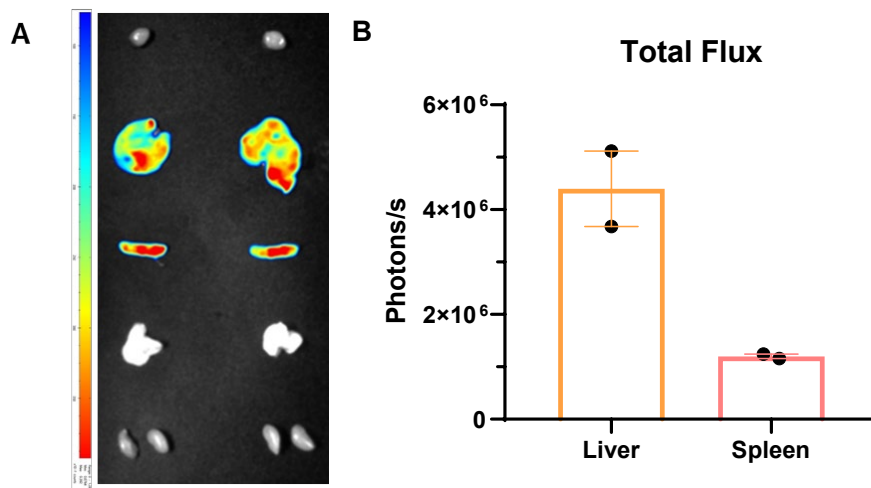


图 1. 尾静脉注射 Luciferase mRNA- InVivo ProteanFect® 复合物后 18 小时后小鼠的心脏、肝脏、脾脏、肺和肾脏的离体生物发光情况(A)以及肝脏与脾脏处总生物发光通量的定量分析(B)。结果显示, Luciferase mRNA- InVivo ProteanFect® 复合物在小鼠的肝脏处与脾脏处均可实现有效地转染，肝脏处与脾脏处蛋白表达量的比值约为 4：1。

使用 InVivo ProteanFect® (PT51) 体内递送试剂盒对 6 周龄的 C57BL/6 小鼠进行 Cas9 mRNA 与 mPcsk9 sgRNA 体内共递送，给药量为 40 µg/只 (mRNA: sgRNA = 2:1, w/w)。在尾静脉注射 7 天后，采集小鼠肝脏细胞，并 DNA 水平上检测基因敲除的效率 (图 2)。

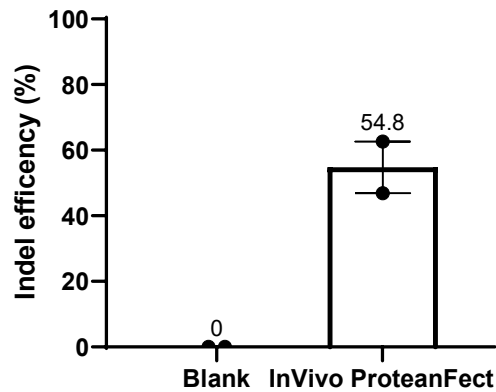


图 2. 经 InVivo ProteanFect® 体内递送试剂盒编辑小鼠肝脏细胞中 mPcsk9 基因的测序分析结果。收集转染后的小鼠肝脏细胞，并提取其中的基因组 DNA。在完成对靶点位置 PCR 扩增后，进行 Sanger 测序，通过 TIDE 对测序结果进行分析，结果显示给药组中靶点基因的编辑效率约为 54.8%。

体内动物转染效果受核酸纯度、核酸类型、小鼠品系、给药操作、给药剂量、动物生理状态、检测时间点、实验模型等多重因素影响。本实验方案与数据分享为参考指引。针对不同核酸与动物模型，使用者需要自行开展预实验，优化实验条件，不对所有实验场景下的体内表达效果作出承诺。

常见问题

1. mRNA 储备液的溶剂与浓度要求

mRNA 的溶剂最好是无酶水或离子总浓度不超过 0.1 mM 的溶液，蛋白凝聚体对盐离子浓度十分敏感，过高会影响后续的递送效率，甚至导致实验失败。mRNA 浓度不宜过低，需达到 $\geq 1000\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

2. 各试剂使用量的确定

表 2 中 InVivo ProteanFect® 递送复合物制备流程中所提供的 $10\mu\text{g}$ mRNA / $60\mu\text{L}$ 是标准体系，如果采用其他 mRNA 用量时，Reagent B 与 Reagent C 的用量按比例缩放即可。

3. 转染体系扩大是否影响转染效率？

当制备超过 $200\mu\text{L}$ 的体系时，为保证获得最佳基因递送效率，最好分批次对 InVivo ProteanFect® 递送复合物进行制备，将各批次制备的复合物合并后，再进行室温孵育。

4. 配制过程中观察到浑浊或少量沉淀，是否正常？什么程度的沉淀意味着制备失败？

在步骤 2 中观察到浑浊或沉淀属于不正常现象；在步骤 3 中观察到浑浊或少量沉淀则属于正常现象。在步骤 3 完成后出现液体浊度低，但有大量大体积絮状悬浮颗粒 ($d>2\text{mm}$) 时，意味着制备失败。

5. 小鼠给药剂量“不低于 $5\mu\text{g}/\text{只}$ ”——这是最低有效剂量还是推荐起始剂量？最佳剂量范围是多少？注射后多久开始检测基因表达？表达峰值在什么时候？持续时间多长？

$5\mu\text{g}/\text{只}$ 为小鼠 Luciferase mRNA 给药的推荐起始剂量，而非所有实验通用的剂量，只适用于体内转染试剂有效性的验证。其体内表达的达峰时间一般是在注射后的 6h 左右，推荐注射后的 6 - 24h 内进行检测。

注意事项

本品仅用于科学研究，不可用于临床诊断与人体。

内部验证数据集有限，未在其它器官、其它核酸、其它动物品系做验证，不保证同样效果。

如果您在实验过程中遇到任何问题，欢迎通过扫描下方二维码联系我们的技术微信，或将您的问题发送至我们的电子邮件：tech@nanoportalbio.com。我们的专业团队将竭诚为您解答疑问，提供技术支持。

