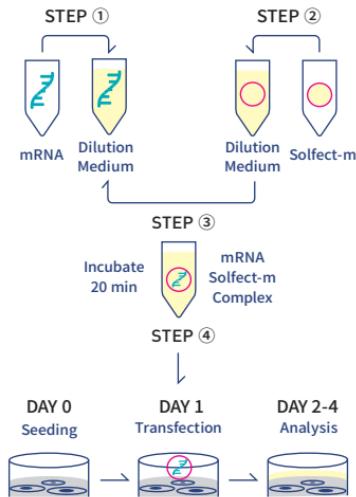


• DAY0 : Well 당 Cell seeding (실험 당일 Cell이 60~70% 되도록)

Culture ware	Surface Area(cm ²)	Number of Cells	Culture Medium (μL)	[보관]
96 well	0.32	5,000~20,000	150	
48 well	1.00	20,000~40,000	300	
24 well	1.88	40,000~75,000	500	
12 well	3.83	75,000~140,000	1000	
6 well	9.40	140,000~250,000	2000	

• TRANSFECTION PROTOCOL



[실험 방법]

- Step ① : mRNA 를 serum 없는 dilution medium 에 넣고 희석
- Step ② : Solfect-m 을 serum 없는 dilution medium 에 넣고 희석
- Step ③ : 희석액은 ② 를 희석액 ① 에 넣고 20분간 반응
- Step ④ : mRNA-Solfect-m complex 를 DAY 1에 각 well 당 일정량 첨가
 - ④-1) Serum 을 포함하는 medium 조건
 - Medium change 하지 않고 ④ 진행
 - ④-2) Serum 을 포함하지 않는 medium 조건
 - Transfection 전에 Opti-MEM 으로 Change 후 ④ 진행
 - Transfection 3~4시간 후 Growth Medium 으로 Change
 - Primary cell 혹은 Stem cell 등에 권장
- Step ⑤ : 1~3 일 후 확인

• DAY 1 : mRNA, Solfect, Dilution 사용 권장량 (Dilution medium 양은 mRNA와 Solfect-m Solution을 포함)

Culture ware	mRNA (μg)	Dilution Medium (μL)	Solfect-m (μL)	Dilution Medium (μL)	Complex (μL)	Total Volume (μL) (Transfection 후)	[권장] Dilution medium
	STEP①		STEP②		STEP③	STEP④	
96 well	0.1	10	RNA양의 2~3배 (2~3 uL/ug mRNA)	10	20	170	• Opti-MEM(Gibco) • TOM (Welgene) • Serum없는 growth basal medium도 가능
48 well	0.2~0.3	20		20	40	340	
24 well	0.5~0.6	25		25	50	550	
12 well	1.0	50		50	100	1100	
6 well	1.8	100		100	200	2200	

• DAY 2-4 : Transfection 확인

[실험 방법 예시]

Ex) 48well plate, CHO cell 이용

DAY 0 [Cell seeding] CHO 세포를 48well plate에 25,000개 분주 후 1일 incubation (medium = 300 μL)
(transfection 실험 진행 당시 60~70% confluency)

DAY 1 [mRNA, Reagent dilution] Transfection에 사용할 mRNA와 Solfect-m을

각각의 Tube에 희석하여 준비 (1개 well 기준)

Step ① [mRNA dilution] mRNA 0.2 μg 과 Opti-MEM 의 합이 20 μL가 되도록 tube에 희석

Step ② [Solfect-m dilution] Solfect-m 0.4~0.6 μL 과 Opti-MEM 의 합이 20 μL가 되도록 tube에 희석

Step ③ [Mixing] 전 단계의 ②를 ①에 합쳐준 뒤 pipetting 하여 균일하게 섞기

Step ④ [Complex forming] 20분간 실온에서 incubation

Step ⑤ [Treatment] 섞어준 mRNA-Solfect-m complex 40 μL를 CHO plate에 넣기

DAY 2-4 [Transfection] 24~72시간 이후 다음 실험 진행

※ mRNA-Solfect-m complex 를 serum을 포함하지 않는 medium에 첨가할 경우

Step ④ [Complex forming] 20분간 실온에서 incubation

Step ④-2 [Medium change] Incubation 하는 동안 CHO plate 의 medium 을 Opti-MEM 으로 change

Step ⑤ [Treatment] 섞어준 mRNA-Solfect-m complex 40 μL를 CHO plate에 넣기

Step ⑤-2 [Medium change] 3~4시간 뒤 serum 포함 medium으로 change

DAY 2-4 [Transfection] 24~72시간 이후 다음 실험 진행