

# M5 Hiper“转必得”高难阳离子转染试剂 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper“转必得”高难阳离子转染试剂	1ml	MF979-01

## 【储存条件】

2-8°C储存，保质期两年

## 【产品简介】

“转必得”高难阳离子转染试剂是一种新型高效的阳离子聚合物。它可以与核酸（包括质粒、siRNA、寡聚核苷酸）相互作用形成一种复合物将核酸转运到真核细胞内，适用于大部分真核细胞的细胞转染。

已经成功转染过的细胞系：HeLa、HEK293T、293T、HUVEC、HepG2、HEK293、CNE2、SW480、HEK293FT、HT29、Raw264.7、THP-1、HCT116

## 【产品特性】

大量试验测试表明，与常规转染试剂产品相比，“转必得”高难阳离子转染试剂具有以下优势：

- (1) 转染效率较高。
- (2) 批次稳定，实验重复性好。
- (3) 对于贴壁细胞和悬浮细胞都适用。
- (4) 无明显细胞毒性。
- (5) 适用于 siRNA 细胞转染。
- (6) “转必得”高难阳离子转染试剂适用于**质粒共转染，慢病毒包装及感染实验**。

## 【注意事项】

- 1、转染前细胞应处于良好的生长状态，以对数生长期为佳，推荐细胞传代后 12-24 小时内、细胞密度为 70-90%时进行转染；
- 2、使用高质量的质粒有利于获得较高的转染效率，推荐使用无内毒素质粒抽提试剂盒抽提质粒，A260/A280 比值为 1.8~2.0，质粒浓度在 300ng/μL 以上；
- 3、在配制转染试剂与质粒复合物时，需使用无血清、无抗生素的基础培养基作为溶剂，细胞培养孔中的完全培养基不影响细胞转染效率；
- 4、在细胞转染实验中，根据细胞转染效率可适当调整质粒与转染试剂的用量比例，一般质粒的量（μg）与“转必得”高难阳离子转染试剂剂量(μL)使用比例在 1:1~1:4 之间，推荐比例为 1:2；
- 5、对于毒性比较敏感的细胞，建议转染 4-6 小时后，半量更换新鲜完全培养基；
- 6、转染试剂如遇沉淀，轻轻摇动管身，至沉淀溶解即可使用；
- 7、本产品仅限用于科学研究，不得用于临床诊断和治疗。

## 【使用方法】

### 一、贴壁细胞转染（以 293T 细胞为例）

- 1、第一天，将 293T 细胞接种到 6 孔板中，细胞密度控制在 70%-90%为宜；  
(注：根据实验需求，可以选择不同的细胞培养装置，细胞接种数量和所需培养液体积详见附表 1)
- 2、第二天，先取 4 $\mu$ g 质粒加入到盛有 200 $\mu$ L 无血清 DMEM 基础培养基离心管中，吹打混合均匀，然后加入 8 $\mu$ L “转必得”高难阳离子转染试剂，吹打混合；  
(注：MEM、1640、F12 等基础培养基均可用于“转必得”高难阳离子转染试剂的溶剂，不同的细胞培养装置所需质粒的量和“转必得”高难阳离子转染试剂剂量详见附表 2)
- 3、将 200 $\mu$ L 质粒/“转必得”高难阳离子转染试剂复合物均匀滴加到 6 孔细胞培养板孔中，轻轻晃动细胞培养板使其均匀分布；  
(注：6 孔板中为完全培养基，轻轻晃动细胞培养板即可，切勿剧烈摇动细胞培养板，以免细胞脱落漂浮！)
- 4、细胞转染 4-6 小时后，半量更换新鲜完全培养基；  
(注：半量换液时，吸弃一半原有完全培养基，补加一半新鲜完全培养基)
- 5、细胞转染 24~48 小时后，即可使用适当方式进行检测，如 RT-PCR、Western、ELISA、报告基因等，或加入相应筛选药物（G418 或 Puromycin）可获得稳定细胞株。

### 二、悬浮细胞转染（以 HEK293F 细胞为例）

- 1、第一天，在 125mL 摇瓶中接种 30mL 密度为  $1 \times 10^6$  个/mL HEK293F 悬浮细胞；
- 2、第二天，先取 30 $\mu$ g 质粒加入到盛有 3 mL 无血清 DMEM 基础培养基离心管中，吹打混合均匀，然后加入 60 $\mu$ L “转必得”高难阳离子转染试剂，吹打混合均匀；
- 3、将 3mL 质粒/“转必得”高难阳离子转染试剂复合物均匀滴加到盛有 30mL HEK293F 悬浮细胞的 125mL 摇瓶中，轻轻摇动摇瓶使其混合均匀；
- 4、细胞转染 3~5 天后，根据蛋白表达的情况（胞内表达或分泌表达），收集细胞或细胞培养上清，进行后续蛋白纯化操作。

### 三、siRNA 细胞转染（以 HeLa 细胞为例）

- 1、第一天，将 HeLa 细胞接种到 6 孔板中，细胞密度控制在 70-90%为宜；
- 2、第二天，先取 100pmol siRNA 加入到盛有 200 $\mu$ L 无血清 DMEM 基础培养基离心管中，吹打混合均匀，然后加入 5 $\mu$ L “转必得”高难阳离子转染试剂，吹打混合均匀；  
(注：不同的细胞培养装置所需 siRNA 的量和“转必得”高难阳离子转染试剂剂量详见附表 3)
- 3、将 200 $\mu$ L 质粒/“转必得”高难阳离子转染试剂复合物均匀滴加到 6 孔细胞培养板孔中，轻轻晃动细胞培养板使其均匀分布；  
(注：6 孔板中为完全培养基，轻轻晃动细胞培养板即可，切勿剧烈摇动细胞培养板，以免细胞脱落漂浮！)
- 4、细胞转染 4-6 小时后，半量更换新鲜完全培养基；  
(注：半量换液时，吸弃一半原有完全培养基，补加一半新鲜完全培养基)
- 5、细胞转染 24-48 小时后，即可使用适当方式进行检测，如 RT-PCR、Western、ELISA、报告基因等。

### 四、慢病毒包装及感染（以 A549 细胞为例）

- 1、第一天，将 293T 细胞接种到 10cm 培养皿中，细胞密度控制在 70%-90%为宜；
- 2、第二天，先分别取慢病毒包装质粒 pMD2G 4 $\mu$ g，慢病毒包装质粒 pSPAX2 3 $\mu$ g，表达质粒 6 $\mu$ g 加入到盛有 1mL 无血清 DMEM 基础培养基离心管中，吹打混合均匀，然后加入 26 $\mu$ L “转必得”高难阳离子转染试剂，吹打混合均匀；
- 3、将 1mL 质粒/“转必得”高难阳离子转染试剂复合物均匀滴加到 10cm 培养皿中，轻轻晃动细胞培养皿使其均匀分布；
- 4、细胞转染 4-6 小时后，半量更换新鲜完全培养基；
- 5、细胞转染 48 小时后，常规离心收集细胞培养上清液，用 0.45 $\mu$ m 滤器过滤细胞上清液，200 $\mu$ L 分装后 -80 $^{\circ}$ C 冻存备用；
- 6、将待感染的 A549 接种到 6 孔板中，细胞密度控制在 70%-90%为宜；
- 7、细胞贴壁后，将 200 $\mu$ L 慢病毒液均匀滴加到 6 孔板中，轻轻晃动细胞培养板使其均匀分布；
- 8、慢病毒感染 18 小时后，更换新鲜完全培养基；
- 9、慢病毒感染 48 小时后，即可使用适当方式进行检测，如 RT-PCR、Western、ELISA、报告基因等，或加入相应筛选药物（G418 或 Puromycin）可获得稳定表达细胞株。

**附表1**
**常用细胞培养装置转染前一天细胞接种的推荐数量和培养体积**

细胞培养装置	接种细胞数量	细胞培养液体积
96 孔板	$(1-3) \times 10^4$	0.1-0.2mL
24 孔板	$(1-3) \times 10^5$	0.5-1mL
12 孔板	$(2-4) \times 10^5$	1-2mL
6 孔板	$(3-5) \times 10^5$	2-3mL
60mm 培养皿	$(5-10) \times 10^5$	3-5mL
100mm 培养皿	$(1-3) \times 10^6$	8-10mL
125mL 摇瓶	$(1.5-2.5) \times 10^7$	30-35mL
500mL 摇瓶	$(6-10) \times 10^7$	120-140mL
1000mL 摇瓶	$(1.2-2) \times 10^8$	240-280mL

**附表 2 常用细胞培养装置细胞转染时，各组分推荐使用剂量（质粒细胞转染）**

细胞培养装置	质粒( $\mu\text{g}$ )	转必得”高难阳离子转染试剂( $\mu\text{L}$ )	基础培养基( $\mu\text{L}$ )
96 孔板	0.2	0.4	10
24 孔板	1	2	50
12 孔板	2	4	100
6 孔板	2-4	4-8	200
60mm 培养皿	3-5	6-10	400
100mm 培养皿	5-10	10-20	1000
125mL 摇瓶	30-35	60-70	3000
500mL 摇瓶	120-140	240-280	12000
1000mL 摇瓶	240-280	480-560	24000

**附表 3 常用细胞培养装置细胞转染时，各组分推荐使用剂量（siRNA 细胞转染）**

细胞培养装置	siRNA (pmol)	转必得”高难阳离子转染试剂 ( $\mu\text{L}$ )	基础培养基 ( $\mu\text{L}$ )
96 孔板	4	0.2	10
24 孔板	20	1	50
12 孔板	40	2	100
6 孔板	100	5	200
60mm 培养皿	200	10	400
100mm 培养皿	600	30	1000

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。