

M5 HiPer Suspension Cell Special Transfection Reagent

“悬浮敏”悬浮细胞专用转染试剂

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Suspension Cell Special Transfection Reagent	0.5ml	MF388-01
M5 HiPer Suspension Cell Special Transfection Reagent	1ml	MF388-02

【储存条件】

4 度保存, [不可冷冻!](#)

【产品简介】

M5 HiPer Suspension Cell Special Transfection Reagent “悬浮敏”悬浮细胞专用转染试剂是一种阳离子脂质体转染试剂, 经优化专门用于悬浮细胞的转染, 且适用于 DNA、RNA 和寡核苷酸的转染, 对大多数真核细胞具有很高的转染效率。本产品以无菌的液体形式提供。

【注意事项】

1. 为得到最优的转染效率, 请先用无血清培养基 (如 OPTI-MEM I 培养基) 稀释 M5 HiPer Suspension Cell Special Transfection Reagent “悬浮敏”悬浮细胞专用转染试剂 (以下简称“悬浮敏”转染试剂), 之后与 DNA 或 RNA 做混合。
2. 使用高质量的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率, 务必确保质粒的高纯度和无菌状态, 彻底去除质粒提取过程中可能残留的苯酚和高盐, 因为上述酚类会对细胞造成损失, 而高盐分会干扰“悬浮敏转染试剂-复合物”的形成。质粒中的内毒素也是转染的大敌, 务必去除。
3. 转染时培养基中不能添加抗生素。
4. 悬浮敏转染试剂应该在 4°C 保存, 要注意避免多次反复长时间开盖, 因为可能会导致“悬浮敏”转染试剂氧化而影响转染效率。
5. 需优化 DNA 浓度和“悬浮敏”转染试剂量以得到最大的转染效率。DNA 和“悬浮敏”转染试剂的比例, 通常推荐是 1:2 或 1:3。

【操作案例】

推荐转染条件 (以 293 悬浮培养细胞, 质粒 DNA 转染为例)

最终转染体积: 30 mL

转染细胞数目: 3×10^7 cell (最终细胞密度: 1×10^6 cell/mL), 转染之前需要确保细胞健康, 细胞活力 > 90%。

质粒 DNA 量: 20-40 μ g (通常 30 μ g)

转染试剂量: 40-80 μ L (通常 60 μ L). Use 2 μ L “悬浮敏”转染试剂每 1 μ g 质粒 DNA 用于转染。

【操作步骤】

使用以下步骤在 30 mL 总体系内转染 293 细胞，转染过程中生长培养基内不要添加抗生素，否则会降低转染效率。转染过程请同时设置阳性对照组和阴性对照组（无 DNA，无“悬浮敏”转染试剂）。

注意：对于其他的培养总体系，按比例放大或者缩小各组分用量。

1. 转染当天，在配制复合物之前，准备转染需要的细胞量【见上推荐转染条件，即 28 mL 生长培养基内加入 3×10^7 细胞，台盼蓝排斥法确定细胞活力和小量细胞成团量。剧烈漩涡混匀 45 s 以打破细胞团，并用计数器测定总细胞量。细胞活力需 $>90\%$ 。】

注意：为了达到最优效率，确保单细胞悬液。

2. 按照以下方法配制“悬浮敏”转染试剂-DNA 复合物，

a, 用无血清培养基（如 OPTI-MEM I）稀释 30 μg 质粒 DNA，使其终体积为 1 mL；

b, 用无血清培养基（如 OPTI-MEM I）稀释 60 μL “悬浮敏”转染试剂，使其终体积为 1 mL；轻轻混匀，于室温孵育 5 min；

注意：过长时间孵育会降低效率。

c, 孵育 5min 之后，将稀释的质粒 DNA 加入稀释的“悬浮敏”转染试剂，使其总体积为 2mL。轻轻混匀。

d, 室温孵育 20-30 min，使得 DNA-“悬浮敏”转染试剂复合物形成。此时溶液可能会混浊，但不会影响转染。

注意：DNA-“悬浮敏”转染试剂复合物室温至少可以稳定保存 5 h。

3. 孵育完全后，将 2mL DNA“悬浮敏”转染试剂复合物加入 28mL 含 293 悬浮细胞的生长培养基内，使得细胞最终的密度约为 1×10^6 cell/mL。对于阴性对照，用 2mL 无血清培养基（如 OPTI-MEM I）替换。

4. 37°C ， $8\% \text{CO}_2$ 轨道摇床培养，转速 125 rpm，直至进行转基因表达分析，无需去掉复合物或更换培养基。有必要在 4-6 h 后更换生长培养基，不会降低转染活性。

【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。