

细胞转染试剂盒（纳米聚合物法）

产品货号：T10975

产品规格：100rxns/6 well plate

产品简介：

本产品是一种由纳米聚合物组成的转染试剂，适用于将质粒DNA转染到真核细胞中。其原理是质粒DNA与纳米聚合物形成多聚复合物，附着于细胞膜表面，在细胞内吞作用下进入到细胞内，在细胞中转录和表达。该方法对于常见的哺乳动物细胞具有较高转染效率、重复性好、操作简单、无明显的细胞毒性等特点。本产品基本不受细胞培养液中血清和抗生素的影响，即可在血清和抗生素存在的情况下进行细胞转染。

产品组成：

产品名称	100 rxns /6 well plate	保存条件
NanoFect Reagent	150 μ l $\times$ 2 pcs	-20 $^{\circ}$ C
NanoFect Buffer	5 ml $\times$ 2 pcs	-20 $^{\circ}$ C

产品优势：

1. 本产品具有较高的转染效率，重复性好，无明显细胞毒性。
2. 本产品适用性广，适用于大多数贴壁细胞。
3. 本产品不受血清及抗生素的影响，转染过程中无需更换成无血清的培养基。
4. 本产品不仅适用于细胞的瞬时转染，也适用于细胞的稳定转染。

使用注意事项：

1. 实验过程中所使用的耗材需保证无菌污染。
2. 初次实验可考虑利用带有荧光标签的质粒对细胞密度、转染试剂以及DNA的添加量进行摸索，找出目的细胞的最佳转染条件。
3. 细胞生长状态会直接影响转染效率。因此，转染实验应使用生长健康且状态良好的细胞，转染时细胞融合度达到50%~80%，具体密度根据培养的细胞进行调整。
4. NanoFect Reagent使用完后盖紧盖子，并放回含有干燥剂的包装袋中，避免吸潮。
5. 使用过程中请佩戴一次性手套等防护用品，避免造成细胞污染。
6. 本产品的分装以及实验操作均需在超净工作台中完成。

实验前准备：

1. 确认细胞生长状态以及细胞汇合度，确保转染时细胞汇合度达到50%~80%。
2. 请提前将本试剂盒产品取出，待恢复至室温后再实验，NanoFect Reagent使用前请涡旋混匀。
3. 准备实验所需的质粒DNA以及细胞培养所需的无菌材料。

操作方法（以6孔板为例）：

此操作方法以6孔细胞培养板的单孔为例，其他类型培养皿或培养板可参考下表进行调整；以下所有操作建议在无菌操作台中进行。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

培养皿	推荐质粒用量 (μg)	可摸索质粒添加 范围*(μg)	NanoFect Buffer (μl)	NanoFect Reagent (μl)
48-well	0.5	0.25-1.25	Up to 12.5 μl	0.2
24-well	1	0.5-2.5	Up to 25 μl	0.4
12-well	2	1-5	Up to 50 μl	0.8
6-well	5	2.5-12.5	Up to 100 μl	2

注：上表中均表示单孔所需试剂量。

1. 转染前一天接种适量细胞于培养皿或培养板内，使细胞在转染前汇合度达到50%~80%。
(注：一般6孔板可接种 $2\sim 8 \times 10^5$ 细胞/孔，不同类型的细胞生长速度和细胞大小不一致，建议在正式实验前可接种不同密度的细胞，摸索最佳的细胞接种密度。)
2. 转染前，提前将转染试剂取出，待其恢复至室温后再进行后续转染实验。
3. 取干净无菌的离心管，对于每孔待转染的细胞，在无菌离心管中添加5 μg DNA质粒使用NanoFect Buffer稀释至100 μl ，用移液器轻柔吹打混匀10~15次。
(注：不同的细胞最佳转染条件不一样，若使用推荐用量所得到的转染效果不理想则可根据上表中推荐的“可摸索质粒添加范围”调整质粒用量。若初次转染后，细胞脱落情况明显，则可降低NanoFect Reagent添加量再进行尝试。)
4. 涡旋混匀NanoFect Reagent溶液，取2 μl NanoFect Reagent加入至已使用NanoFect Buffer稀释的DNA质粒中，轻柔涡旋混匀。
5. 在室温下孵育10~20分钟，形成转染复合物。孵育结束后用移液器吹打混匀。
(注：室温下NanoFect Reagent与质粒DNA孵育时间最好不要超过30分钟。)
6. 去掉待转染细胞孔中的一半培养基。
(注：可将细胞培养基更换成无血清培养基，可能会提高转染效率，但也可能会影响细胞的生长状态。)
7. 按照100 μl /孔将孵育后的转染复合物均匀滴加在细胞培养板中，轻轻前后左右晃动培养板，使转染复合物均匀的分布在细胞表面。
(注：混匀时避免旋转培养皿或培养板，防止沉淀集中于孔中间。)
8. 将细胞培养板置于37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 培养箱中继续培养4小时。
(注：不同的细胞系最佳的孵育时间可能会有所不同，可根据实际情况在4~8h范围内调整优化。)
9. 然后去掉含有转染试剂的培养基，更换成2ml新鲜完全培养基。根据实验需要置于培养箱中继续培养24~72 h，收集细胞进行基因表达情况检测，通常在转染24h后就可检测到转染基因的表达。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com