

高效转染试剂简明说明书 (BW-GT2211)

产品构成

Catalog#	-00	-01	-02
Volume	20 µL	1.0 mL	10 x 1.0 mL
User Manual	1	1	1

产品简介

GeneTran™III 是一种新型转染试剂，可用于各种真核细胞系的核酸（DNA 和 RNA）转染，有下列优势：

- 对许多细胞类型和培养规格都有很高的转染效率（例如：96 孔板）。
- 核酸-GeneTran™III 混合液可直接加到含有或不含有血清的细胞培养液中。
- 转染后不需要去除混合液或更换、添加培养基，但可在转染 4-6 h 后去除混合物。

产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。所有试剂及用品可保存于 4°C（而不是 -20°C）。

要点

- 在转染过程中，不要向培养基中加抗生素，抗生素可能会导致细胞死亡。
- 实验过程中，保持相同的培养条件。

- 请检查无血清培养基与 GeneTran™III 的兼容性，因为一些无血清培养基（如 CD293, SFM II, VP-SFM）可能抑制阳离子脂质体介导的转染。

siRNA 转染步骤

下列方法用于 24 孔板将 siRNA 转染到哺乳动物细胞中。若用于其他规格培养皿的转染，按照规格调整转染体积。所有的数据和体积都是每孔的用量。根据 siRNA 转染优化的描述进行优化，特别是如果你是首次转染哺乳细胞。

1. 转染前一天，将细胞接种于 500 µL 不含抗生素的培养基中，使其在转染时汇合度达到 30-50%。

注：低密度细胞的转染使得转染时间间隔更长，减少由于细胞过度生长造成的细胞活力损失。

2. 转染液制备，每孔细胞用量如下：

a. 用 50 µL 无血清培养基稀释 20 pmol siRNA（转染时 siRNA 浓度为 33 nM），轻轻混匀。

b. 使用前轻轻摇匀 GeneTran™III，然后取 1 µL GeneTran™III 在 50 µL 无血清培养基中，混匀，室温孵育 5 min。

注：25 min 内进行步骤 c。

c. 孵育 5 min 后，将前两步稀释的 siRNA 和 GeneTran™III 混合，轻轻混匀，室温孵育 20 min。

3. 在每孔细胞中加入转染混合液，轻轻摇匀。放置 37°C CO₂ 培养箱中培养 24-96 h 检测基因表达，转染 4-6 h 后可更换培养基。

siRNA 转染优化

为了获得更高的转染效率和较低的非特异性作用，可调整 siRNA 和 GeneTran™III 用量以优化转染。在 24 孔板，siRNA 可在 10-50

pmol 之间调整，GeneTran™III 可在 0.5-1.5 µL 之间调整。根据目的基因的性质，优化条件时也可以考虑较高的转染细胞密度。

质粒 DNA 转染

下列步骤适用于 24 孔板培养的哺乳动物细胞，至于其他培养材料，请参考转染规模调整，所有数量和体积均是按孔计算。大部分细胞系所使用的 DNA（µg）与 GeneTran™III（µL）的比值为 1:2 到 1:3，转染高密度细胞可获得高转染效率、高表达水平和低细胞毒性。优化转染是必需的（见 DNA 转染优化）。

1. **贴壁细胞：**转染前一天，每孔 0.5-2 x 10⁵ 个细胞接种于 500 µL 不含抗生素的培养基中，细胞汇合度达到 90-95% 时进行转染。

悬浮细胞：在配制转染液前，每孔 4-8 x 10⁵ 个细胞接种于 500 µL 不含抗生素的培养基中。

2. 对于每个样品转染，请按如下准备：

a. 用 50 µL 无血清培养基稀释质粒 DNA，轻轻混匀。

b. 使用前轻轻摇匀 GeneTran™III，取适量的 GeneTran™III 在 50 µL 无血清培养基中，混匀，室温孵育 5 min。

注：25 min 内进行步骤 c。

c. 孵育 5 min 后，将前两步稀释的质粒 DNA 和 GeneTran™III（总体积=100 µL）混合，轻轻混匀，室温孵育 20 min。

注：复合物可在室温稳定 6 h。

3. 将 100 µL 混合液加入细胞培养皿中，晃动培养皿混匀培养液。

4. 放入 CO₂ 培养箱，37°C 培养 18-48 h 后检测基因表达，转染 4-6 h 后可更换培养基。

5. 对于稳定转染：在转染 24 h 后以 1:10 稀释接种于新鲜培养基中，第二天可加入选择培养基。

优化质粒 DNA 转染

为了获得更高的转染效率和较低的非特异性作用，可调整质粒 DNA 和 GeneTran™III 用量以及细胞密度以优化转染。确保细胞汇合度大于 90%，质粒 DNA(μg)和 GeneTran™III(μL)比值 1:0.5 到 1:5。

扩大或缩小转染规模

以不同的组织培养形式转染细胞，请按照相对表面积的比例改变 GeneTran™III，核酸，细胞和培养基的用量，如下表所示。对于自动化的高通量系统，建议在 96 孔板中转染 50 μL 的复合液。

注：您可以通过将细胞直接种植到转染混合物中来快速进行 96 孔板转染。在培养皿中制备混合液，直接将细胞以操作步骤中的两倍的密度加入至 100 μL 体积。在有混合液的情况下，细胞将会像往常一样粘附。

24-wel 1	2 cm ²	500 μL	2 x 50 μL	0.8 μg	2.0 μL	20 pmol	1.0 μL
12-wel 1	4 cm ²	1 mL	2 x 100 μL	1.6 μg	4.0 μL	40 pmol	2.0 μL
6-wel 1	10 cm ²	2 mL	2 x 250 μL	4.0 μg	10 μL	100 pmol	5 μL
60-mm	20 cm ²	5 mL	2 x 0.5 mL	8.0 μg	20 μL	200 pmol	10 μL
10-cm	60 cm ²	15 mL	2 x 1.5 mL	24 μg	60 μL	600 pmol	30 μL

¹ 根据制造商的不同，表面积可能有所不同。

² 稀释培养基的体积（步骤 2a 和 2b 中 DNA 或 siRNA 转染步骤）

Cul- ture ves- sel	Surf- .area per well	Shared reagents		DNA transfectio- n		siRNA transfection	
		Vol. of plating mediu- m	Vol. of dilution medium 2	DN- A	Ge- neT- ran- ™ III	RNA	GeneTr- an™ III
96- wel 1	0.3 cm ²	100 μL	2 x 25 μL	0.2 μg	0.5 μL	5 pmol	0.25 μL

杭州倍沃医学科技有限公司

www.beiwobiomedical.com

400-115-2855

market@beiwobiomedical.com