

## PolyLea 非脂质体转染试剂

### 产品简介:

外源基因导入真核细胞的方法有很多种,如磷酸钙转染法、DEAE-葡聚糖转染法、脂质体法、电穿孔法、显微注射法等。目前常用的转染试剂是阳离子脂质体和阳离子聚合物,它们容易透过细胞膜,其中阳离子脂质体在体外基因转染中有很高的效率,在体内它迅速被血清清除,会肺组织内累积诱发强烈的抗炎反应,这将导致高水平的毒性,由于阳离子脂质体的局限性,阳离子聚合物转染试剂日益受到重视。

Leagene PolyLea 非脂质体转染试剂(PolyLea Transfection Reagent 采用专利配方的阳离子聚合物为主要成分,其高度的分支结构确保了高正离子电荷密度,使得与带有负电荷的外源基因结合更有效,容易被细胞吸收,排斥少,因此能显著提高外源基因的转染效率,适合多种类型的细胞系,细胞存活率高,可以广泛用于瞬时转染和稳定转染,该试剂对于常见的哺乳动物细胞具有较高的转染效率,较好的重复性,且操作简以及单细胞毒性较小,可用于贴壁细胞和悬浮细胞,与 Lipofectamine® 2000 Reagent 相似。该转染试剂转染细胞时,基本不受细胞培养液中的血清和抗生素的影响,即可以在血清和抗生素存在的情况下进行细胞转染,但为了取得最佳的转染效果,推荐转染时使用不含抗生素的含血清的细胞培养液。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

名称	编号	CZ0004	CZ0004	CZ0004	Storage
	PolyLea 非脂质体转染试剂		0.5ml	1ml	5×1 ml
使用说明书		1 份			

### 自备材料:

- 1、胰蛋白酶消化液、完全培养液和不完全培养液、PBS

### 操作步骤(仅供参考):

#### (一)DNA 转染:

- 1、(以 12 孔板为例)在转染前 18~24h 用胰蛋白酶消化培养细胞,取适量对数期细胞转移至 12 孔板中,并将细胞培养板置于 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养,待细胞密度达到 70~90%即可进行转染;后续操作步骤均按 12 孔板计算,如果转染器皿不同,请按比例自行调节用量。
- 2、在加入待转染的 DNA 之前 2~4h,加入 1ml 不含抗生素的完全培养液,置于 37°C,

- 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养；也可使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液，但抗生素使某些细胞转染后出现一定的细胞毒性。
- 3、配制转染工作液：取两个无菌离心管，分别加入 50μl 不含抗生素和血清的培养液，取其中一离心管加入 1.6~3μg DNA，轻轻混匀；取另一离心管加入 3μl PolyLea 非脂质体转染试剂，轻轻混匀，室温静置 5min，将含有 DNA 的培养液用微量移液器轻轻加入含 PolyLea 非脂质体转染试剂的培养液中，轻轻吹打混匀，室温静置 20min。
  - 4、将上述转染工作液逐滴滴入对应细胞培养液中，轻轻混匀后置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养。
  - 5、培养 4~6h 后，更换为含有血清的完全培养液。对于 Hela 细胞，推荐在转染 4h 更换培养液；对于 NIH3T3、CHO、HEK293T 和 HEK293FT 细胞，推荐在转染 6h 更换培养液。
  - 6、继续培养 24~48h 后，观察或收集细胞或加入适当的筛选药物如 G418 等进行稳定细胞株的筛选。

**不同细胞器皿转染时培养液、DNA、PolyLea 非脂质体转染试剂用量表**

	96-wel 	24-wel 	12-wel 	6-well	6cm dish	10cm dish
铺板培养液	0.15ml	0.5ml	1ml	2ml	5ml	10ml
无血清培养液	15μl	25μl	50μl	100μl	200μl	500μl
DNA	0.2μg	0.8μg	1.6μg	4μg	8μg	24μg
无血清培养液	15μl	25μl	50μl	100μl	200μl	500μl
PolyLea 非脂质体转染试剂	0.4μl	1.6μl	3.2μl	8μl	16μl	48μl

注意：对于 12 孔板中一个孔的细胞，PolyLea 非脂质体转染试剂的用量可以在 3~6μl 范围内进行适当调节，DNA 用量建议在 1.6μg，但也可在 1~4μg 范围内进行适当调节。通常 DNA 用量(μg)和 PolyLea 非脂质体转染试剂(μl)用量比例为 1:2~6，如有必要可在 1:1~10 的范围内优化转染效果。为了获得最佳的转染效果，不同的细胞类型和培养条件有所不同，可在上述推荐范围内自行优化转染条件。

## (二) siRNA 转染：

- 1、(以 12 孔板为例)在转染前 18~24h 用胰蛋白酶消化培养细胞，取适量对数期细胞转移至 12 孔板中，并将细胞培养板置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养，待细胞密度达到 50~80%即可进行转染。后续操作步骤均按 12 孔板计算，如果转染器皿不同，请按比例自行调节用量。
- 2、在加入待转染的 siRNA 之前 2~4h，加入 1ml 不含抗生素的完全培养液，置于 37°C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养；也可使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液，但抗生素使某些细胞转染后出现一定的细胞毒性。

- 3、配制转染工作液：取两个无菌离心管，分别加入 50 $\mu$ l 不含抗生素和血清的培养液，取其中一离心管加入 40pmol siRNA，轻轻混匀；取另一离心管加入 2 $\mu$ l PolyLea 非脂质体转染试剂，轻轻混匀。室温静置 5min，将含有 siRNA 的培养液用微量移液器轻轻加入含 PolyLea 非脂质体转染试剂的培养液中，轻轻吹打混匀，室温静置 20min。
- 4、将上述转染工作液逐滴滴入对应细胞培养液中，轻轻混匀后置于 37 $^{\circ}$ C，5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行培养。
- 5、培养 4~6h 后，更换为含有血清的完全培养液。对于 Hela 细胞，推荐在转染 4h 更换培养液；对于 NIH3T3、CHO、HEK293T 和 HEK293FT 细胞，推荐在转染 6h 更换培养液。
- 6、继续培养 24~48h 后，观察或收集细胞。

**不同细胞器皿转染时培养液、siRNA、PolyLea 非脂质体转染试剂用量表**

	96-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
铺板培养液	0.15ml	0.5ml	1ml	2ml	5ml	10ml
无血清培养液	15 $\mu$ l	25 $\mu$ l	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l	200 $\mu$ l	500 $\mu$ l
siRNA	5pmol	20pmol	40pmol	100pmol	200pmol	600pmol
无血清培养液	15 $\mu$ l	25 $\mu$ l	50 $\mu$ l	100 $\mu$ l	200 $\mu$ l	500 $\mu$ l
PolyLea 非脂质体转染试剂	0.25 $\mu$ l	1 $\mu$ l	2 $\mu$ l	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l	30 $\mu$ l

注意：对于 12 孔板中一个孔的细胞，PolyLea 非脂质体转染试剂的用量可以在 1~4 $\mu$ l 范围内进行适当调节，siRNA 用量建议在 20~80pmol 范围内进行适当调节。通常 siRNA 用量(pmol)和 PolyLea 非脂质体转染试剂( $\mu$ l)用量比例 20:1，如有必要可以在 10~40:1 范围内优化转染效果。为了获得最佳的转染效果，不同的细胞类型和培养条件有所不同，可以在上述推荐范围内自行优化转染条件；siRNA 的推荐浓度为 20 $\mu$ M，常用浓度范围为 10~50 $\mu$ M。对于多个孔转染相同数量相同质粒的情况可以把每个孔所需的 PolyLea 非脂质体转染试剂和 siRNA 混合物分别配制，然后一起混合在同一个离心管内，后续混匀并孵育 20min 后，按照推荐用量滴加到细胞培养器皿内。对于其它培养板或培养器皿，各种试剂的用量可以按照细胞培养器皿的培养面积按比例进行换算，如果转染寡核苷酸或 RNA 等可以参考转染 DNA 的条件进行。

#### 注意事项：

- 1、注意无菌操作，尽量避免污染，
- 2、使用高纯度 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率，同时 DNA 不应含有蛋白和酚。
- 3、影响转染效率的因素有很多，如细胞类型、细胞状态及密度、DNA/siRNA 转染量、转染试剂与 DNA/siRNA 比例等，应该在具体实践中优化来确定最佳转染条件。
- 4、为了取得较高的转染效率，推荐使用在 50 代以内的细胞进行转染，转染前细胞必须处

于良好的生长状态。

- 5、为了取得较高的转染效率，推荐使用高纯度的质粒， $OD_{260}/OD_{280} \geq 1.8$ 。
- 6、PolyLea 非脂质体转染试剂不应 Vortex 或离心，宜缓慢晃动混匀。
- 7、在体外细胞转染试验中，可通过预实验在 PolyLea 非脂质体转染试剂：DNA ( $\mu\text{g}$ )=2:1~6:1 之间选择最佳的比例。
- 8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月有效；低温运输，4℃保存。

**相关产品：**

产品编号	产品名称
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DC0032	Masson 三色染色液
DC0041	天狼星红染色液
DG0005	糖原 PAS 染色液
DM0002	姬姆萨染色液(1:9)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
TE0002	碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(PNP 微板法)