

01/产品概述

细胞转染是指将外源分子导入真核细胞内以改变其基因型或表型的一种技术。随着分子生物学和细胞生物学研究的不断发展，转染已经成为研究和控制基因功能的常规手段，广泛应用于基因功能研究、调控基因表达、突变分析，以及基因治疗、细胞治疗、蛋白生产、疫苗生产等领域。转染大致可分为物理介导、化学介导和生物介导三类途径。其中化学介导方法因其兼具高效低毒、方便快捷等优点，应用广泛。化学介导方法包括经典的磷酸钙共沉淀法、脂质体转染方法以及多种阳离子物质介导的转染方法。

理想的细胞转染方法应该具有转染效率高、细胞毒性小等优点。脂质体和阳离子聚合物是目前研究最多的人工合成载体。脂质体对细胞膜具有很高的亲和力，它们可以很容易地通过内吞作用或直接膜融合进入细胞质，并通过脂质-磷脂交换释放结合的 DNA。因此，这些材料通常具有较高的转染效率。然而，脂质体在基因递送方面具有关键的局限性，包括可重复制备性差，以及一定的细胞毒性。市面上多种商业化的脂质体转染试剂要求细胞铺板密度较高，以 90%-95% 为佳，这有助于减少阳离子脂质体细胞毒性造成的影响。但是，如果研究的基因要求比较长的表达时间，例如细胞周期相关基因，或者细胞表面蛋白，又或者转染后续需要进行继续培养和功能研究，则不适合用脂质体核酸转染试剂。阳离子聚合物载体是另一类研究较多的人工合成载体。这些聚合物通过离子相互作用与 DNA 形成纳米尺寸的复合物。阳离子聚合物在基因递送方面具有几个独特的特征，例如，易于制造、配方稳定、易于修饰等。目前，众多的研究者和生物公司将新一代转染试剂的开发聚焦在非脂质体的聚合物上，以寻找更高效低毒，同时对研究影响较小的转染试剂。

Synbio™ HE Transfection Reagent (S19110) 是在 Synbio™ Transfection Reagent (S09110) 基础上发展起来的性能更优异的阳离子高分子聚合物转染试剂，适用于 DNA、RNA 的转染。其原理为带正电的高分子聚合物与核酸带负电的磷酸基团形成带正电的复合物后，与细胞表面带负电的蛋白多糖相互作用，并通过内吞作用进入细胞，随后在胞质中释放，实现外源核酸的细胞转染。S19110 与 S09110 的基因转染原理是相似的，但是，S19110 在 S09110 使用的阳离子高分子表面引入了细胞穿膜肽和内涵体逃逸促进剂，其细胞内吞能力和内涵体逃逸能力进一步增强，以保证更多的复合物进入细胞质，从而实现更优异的细胞转染效果。

Synbio™ HE Transfection Reagent 对多种常见细胞、难转细胞、原代细胞均具有高水平转染效率，具有高效低毒、操作简单、重复性好等优点。其独特的配方使其可直接加入培养基中，血清的存在不会影响转染效率，这样可以减少去除血清对细胞的损伤。同时，转染后不需要除去 Synbio™ HE Transfection Reagent-核酸复合物或更换新鲜培养基，也可根据具体情况优化转染体系。

02/产品组分

组分	S19110-M	S19110-01	S19110-05
Synbio™ HE Transfection Reagent	0.2 mL/支	1 mL/支	1 mL x 5 支

03/保存条件

冰袋(wet ice)运输。4℃保存，有效期 6 个月。-30℃至-10℃保存，有效期 12 个月，避免反复冻融。

04/产品特点

- ✧ 卓越的转染效率——针对广泛类型的细胞，均表现出卓越的转染效率
- ✧ 细胞毒性低——转染的细胞仍保持很好的活性
- ✧ 适用范围广——普通细胞，难转细胞，原代细胞全面覆盖
- ✧ 操作简单——在血清存在时亦具有可靠的转染效率，转染后无需去除复合物或更换新鲜培养基

05/适用范围

Synbio™ HE Transfection Reagent 采用先进的阳离子高分子聚合物为主要成分，是一种高效的核酸转染试剂，可成功转染多种真核细胞、难转细胞、原代细胞，适用于 DNA、RNA 的转染。

06/实验流程概要

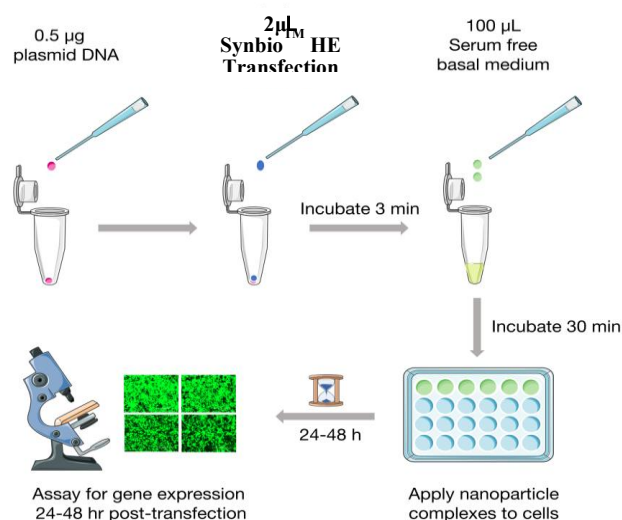


图 1: Synbio™ HE Transfection Reagent (S19110)转染实验流程图

07/实验步骤 (以 24 孔板为例，其他培养板加样体积参考表一：转染量度标准)

1. 准备待转染细胞

(1) 贴壁细胞：转染前一天，将胰酶消化后的细胞按照每孔 $0.5-1.5 \times 10^5$ 个细胞的量进行铺板，使其在转染时密度为 50% 左右。

(2) 悬浮细胞：转染当天，配制转染试剂-核酸复合物之前，在 24 孔板中进行细胞铺板，每 500 μL 生长培养基中加入 $1-3 \times 10^5$ 个细胞。

- ◇ 细胞状态会极大影响转染效率，待转染细胞应处于良好生长状态，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染。

2. 准备转染试剂-核酸复合物

(1) 取 0.5 μg 质粒加入到 1.5 mL 离心管中，加入 2 μL * 转染试剂与质粒混合，室温孵育 3 分钟。

- ◇ * 转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响。通常情况下，24 孔板的推荐 DNA 用量为 0.2-0.6 μg ，转染试剂推荐用量为 1-4 μL 。建议初次使用时，可在推荐范围内进行不同用量的预实验，以优化转染效果。

(2) 往上述混合物中加入 100 μL 无血清基础培养基(推荐使用 Opti-MEM™ I 减血清培养基(无血清))，轻轻混匀，在室温下静置 30 分钟，形成转染试剂-核酸复合物。

- ◇ 转染试剂-核酸复合物在室温下 4 个小时内保持稳定。

3. 细胞转染

给细胞更换新鲜的预热的完全培养基(500 μL /孔)，将上述 100 μL 转染试剂-核酸复合物加入每孔细胞，轻轻摇动培养板混匀。

- ◇ 对于悬浮细胞系：转染 5 小时后，可选择加入 PMA 和/或 PHA 以提高 CMV 启动子的活性并促进基因表达。对于 Jurkat 细胞，PHA 和 PMA 的终浓度分别为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 50 ng/mL ，可以提高 CMV 启动子活性和基因表达。对于 K562 细胞，只加入 PMA 足以提高启动子活性。

4. 分析转染细胞

转染细胞培养 24-48 小时后，可根据实际情况用荧光检测法、Western Blot、RT-PCR、

ELISA、流式细胞术、报告基因等检测转染效果，或加入筛选药物进行稳定细胞株的筛选。

表一：转染量度标准

细胞培养 装置规格	培养体系 (mL)	DNA (μ g)	转染试剂 (μ L)	无血清基础培养基 (μ L)
96 孔板	0.1	0.1	0.4	20
24 孔板	0.5	0.5	2	100
12 孔板	1	1	4	200
6 孔板	2	2	8	400
60 mm 皿	4	2-4	8-16	800
100 mm 皿	10	5-10	20-40	2000

08/注意事项

1. 核酸质量：想要获得最高的转染效率和最低的细胞毒性，应选用高纯度、无菌、无污染、无内毒素的优质核酸。质粒中的内毒素是转染的大敌，内毒素会导致转染效率显著下降，特别是对内毒素敏感的细胞，例如原代细胞、悬浮细胞、造血细胞等。推荐使用无内毒素质粒抽提试剂盒进行质粒提取，保证质粒 A₂₆₀/A₂₈₀ 比值为 1.8-2.0。同时，需合理计算质粒用量，转染过量的质粒可能会导致细胞毒性甚至死亡。
2. 细胞质量：细胞状态会极大影响转染效率，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染。
3. 细胞密度：建议细胞传代后 12-24 小时内、细胞密度约为 50% 时进行转染。不同的细胞转染实验，对细胞密度的要求不尽相同。在进行不同核酸或不同细胞系的转染时，需要根据说明书优化实验条件。此外，在实验过程中应保证相同的接种条件，确保实验数据的可重复性。
4. 质粒与转染试剂的使用量：对于 24 孔板培养的大多数细胞系来说，我们推荐的 DNA 用量为 0.2-0.6 μ g (推荐 0.5 μ g)，转染试剂的用量为 1-4 μ L (推荐 2 μ L)。想要获得最优的转染结果，需要对 DNA 用量及转染试剂用量进行优化，根据所转染的细胞类型及质粒选择适合的用量。
5. Synbio™ HE Transfection Reagent 可用于有血清培养基的转染，转染后不需要去除复合物或换培养基。但是，制备转染复合物时要求用无血清基础培养基稀释 DNA 和转染试剂 (推荐使用 Opti-MEM™ I 减血清培养基 (无血清))，因为血清会影响复合物的形成。
6. 由于一些特殊培养基中的某些成分可能会抑制阳离子聚合物介导的转染，因此有必要检测特殊培养基与本产品的相容性。