



CW Universal Transfection Reagent

目录号：CW9302

运输与保存：4℃保存，冰袋运输；试剂不可冷冻。

产品内容

Component	CW9302T	CW9302M
CW Universal Transfection Reagent	100 μL	0.75 mL

适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染

产品简介

该转染试剂是一种新型的阳离子脂质体转染试剂。适合于将核酸(DNA和RNA)转染入真核细胞，具有低细胞毒性；对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率；转染时血清的存在不影响转染效率等优点。

质粒DNA的转染

对大多数细胞来说，DNA(μg)与转染试剂(μl)的比例为 1:2~1:3。转染时高的细胞密度可以得到高的转染效率和表达水平，并能减少细胞毒性。

1. 以 24 孔板为例

贴壁细胞：转染前18-24 h，用500 μL 不含抗生素的培养基接种 $0.5\sim 2\times 10^5$ 细胞，使之第二天能达到70-90%汇合。

悬浮细胞：在准备转染复合物之前，用500 μL 不含抗生素的培养基接种 $4\sim 8\times 10^5$ 细胞即可。

2. 对每个转染样品，进行以下操作

2.1 在离心管里分别加入50 μL 无血清Opti-MEM培养基（高糖 DMEM 培养基）和0.8 μg DNA 轻柔混匀，制成DNA稀释液。

2.2 在另一个离心管里分别加入50 μL Opti-MEM培养基（高糖 DMEM 培养基）和2.0 μL 转染试剂(用前先混匀)，轻柔混匀，制成转染试剂稀释液，室温静置5分钟。

2.3 将DNA稀释液和转染试剂稀释液混合，轻柔混匀，室温静置20分钟，形成转染复合物。转染复合物在室温下可稳定存在6小时。

3. 将转染复合物加入到接种好的细胞中，将培养板轻轻地前后摇动，使复合物分散均匀。

4. 在37 $^{\circ}\text{C}$ CO $_2$ 培养箱中培养4-6小时后更换培养基，继续培养18-48小时。

5. 如果要筛选稳定细胞株，则在转染24小时后将细胞按照1:10或更高的比例接种到新鲜培养基中，第二天加入选择性培养基进行筛选。

质粒DNA转染的优化为达到最高的转染效率和降低细胞毒性的影响，可以对DNA和转染试剂的比例以及细胞密度进行优化，一般在1:0.5-1:5的范围内优化DNA (μg)和转染试剂 (μL) 的比例。

不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及转染试剂用量

细胞培养板	每孔面积	培养基用量		DNA转染		siRNA	
		铺板培养基用量	稀释培养基用量	DNA	转染试剂	RNAi	转染试剂
96-well	0.3 cm ²	100 uL	2×25 μL	0.2 μg	0.5 μL	5 pmol	0.25 μL
24-well	2 cm ²	500 uL	2×50 μL	0.8 μg	2.0 μL	20 pmol	1.0 μL
12-well	4 cm ²	1 mL	2×100 μL	1.6 μg	4.0 μL	40 pmol	2.0 μL
6-well	10 cm ²	2 mL	2×250 μL	4.0 μg	10 μL	100 pmol	5.0 μL
60-mm	20 cm ²	5 mL	2×0.5 mL	8.0 μg	20 μL	200 pmol	10 μL
10-cm	60 cm ²	15 mL	2×1.5 mL	24 μg	60 μL	600 pmol	30 μL

转染试剂用于不同细胞转染时用量参考（以 96 孔板为例）

细胞型号	培养基	每孔细胞数	DNA的量	转染试剂量
293H	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
293FT	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
293E	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
293F	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
COS7	DMEM	1.5×10 ⁴	0.4 μg	0.5 μL
hela	DMEM	2×10 ⁴	0.3 μg	0.5 μL
Caco2	MEM	3.5×10 ⁴	0.3 μg	0.75 μL
BHK21	MEM	2×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
CHO-DG44	DMEM+HT+pro	2×10 ⁴	0.5 μg	0.5 μL
RAW264.7	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
MCF7	MEM/NEAA+0.01mg/mL insulin +sodium pyruvat	2×10 ⁴	0.1 μg	0.25 μL
SW480	IMDM	3×10 ⁴	0.4 μg	0.5 μL
MDCK	DMEM	4×10 ⁴	0.6 μg	1 μL
CHO-K1	IMDM+Pro	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
HepG2	DMEM	3×10 ⁴	0.5 μg	0.75 μL
A549	DMEM	2×10 ⁴	0.3 μg	0.5 μL
NIH/3T3	DMEM	1.5×10 ⁴	0.1 μg	0.75 μL
vero	DMEM	3×10 ⁴	0.3 μg	0.75 μL
sf9	SIM SF	5×10 ⁴	0.4 μg	0.75 μL

常见细胞的转染效率（仅供参考，实验条件不同转染效率会有差别）

细胞种类	HEK293	HCT116	WRL-68	HepG2	NIC/3T3	THP-1
转染效率	> 80%	> 80%	~80%	~80%	~80%	> 50%
细胞种类	MEF	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	HUVEC
转染效率	> 50%	> 50%	> 80%	> 80%	> 70%	> 80%

细胞种类	Hela	MCF-7	293T	TS cell	HO 1980	A549
转染效率	> 80%	> 80%	> 80%	> 60%	> 60%	> 80%
细胞种类	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu 1	L929
转染效率	> 80%	> 80%	> 80%	> 70%	> 70%	> 70%