



CW Plasmid Transfection Reagent

目录号：CW9301

运输与保存：4℃保存，有效期12个月，冰袋运输；试剂不可冷冻。

产品内容

Component	CW9301T	CW9301M
CW Plasmid Transfection Reagent	100 μ L	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

该试剂的核心组分为阳离子聚合物，转染原理利用带正电的聚合物与核酸分子中带负电的磷酸基团结合，形成带有正电荷的复合物。该复合物与细胞表面带有负电荷的蛋白多糖发生相互作用，并通过胞吞作用顺利进入细胞内部。本品具备多项优势，包括高效的转染性能、较低的细胞毒性、简便的操作流程、良好的重复性，以及广泛的适用范围。

使用方法

以24孔板为例，其他规格培养皿转染体系请参考表1

1. 接种细胞

贴壁细胞，转染前 18-24 h进行铺板（不含抗生素），使其在转染时的密度大约在 80%左右。

悬浮细胞，转染当天，在配制转染复合物之前进行铺板，每500 μL 生长培养基中加入 $4-8 \times 10^5$ cells。

注意：培养液中的血清不影响转染效率。不同类型的细胞转染试剂使用量不同，建议初次使用时设置梯度进行优化最佳使用量。

2. 准备转染复合物

2.1 每孔细胞，将1 μg 质粒DNA稀释到40 μL 无血清的高糖DMEM培养基（或OPTI-MEMI培养基），轻轻混匀。

2.2 每孔细胞，将3 μL 转染试剂稀释到40 μL 无血清的高糖DMEM培养基（或者OPTI-MEMI培养基），轻轻混匀。

注意：无血清的高糖DMEM培养基是稀释液，不能使用含血清的培养基进行DNA和转染试剂的稀释。因为转染复合物的形成过程不能含有血清。

2.3 将稀释好的转染试剂尽快全部加入到已稀释好的质粒DNA中，轻轻混匀。

注意：此混合的顺序不能反向进行。

2.4 室温放置10-15 min, 以形成转染复合物。

3. 细胞转染

- 3.1 将上述 80 μL 转染复合物均匀滴入到含细胞的培养皿中。轻轻晃动培养皿或轻微振荡，让转染复合物分散均匀。
- 3.2 在 37℃，5% CO_2 培养箱培养 6–18 h，去除含转染复合物的培养液，更换新的培养液，继续培养至对转入基因表达分析。

注意：筛选稳定转染细胞株，转染细胞 24 h 后，将细胞传代至新鲜的生长培养基中（将细胞稀释 10 倍以上），在 37℃，5% CO_2 培养箱中孵育 24 h，加入筛选培养基。在有转染抗性基因相匹配的药物筛选条件下，约 1~2 周可筛选到耐药性克隆，在这期间需经常更换含筛选药物的生长培养基。

表 1：不同培养体积对应的待转 DNA、转染试剂、稀释液用量

培养器皿	培养液体积	DNA 量	转染试剂	稀释液
48 孔板	0.3 mL	0.5 μg	1.5 μL	2×25 μL
24 孔板	0.5 mL	1 μg	3 μL	2×40 μL
12 孔板	0.75 mL	1.5 μg	4.5 μL	2×60 μL
6 孔板	1 mL	3 μg	9 μL	2×125 μL
35 mm 培养皿	1 mL	3 μg	9 μL	2×125 μL
60 mm 培养皿	3 mL	6 μg	18 μL	2×250 μL
100 mm 培养皿	9 mL	12 μg	36 μL	2×500 μL

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 质粒质量：请务必使用高纯度无内毒素转染级质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度，260 nm/280 nm 比值确定 DNA 纯度（比值应该在 1.8–2.0 的范围之内）。建议通过琼脂糖凝胶电泳检测质粒的完整性。
3. 细胞条件：使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保细胞没有被细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞，请在转染前至少传代两次。
4. 细胞培养液要求：该转染试剂可用于有血清培养基的转染，并且转染前不需要换培养基。但是，制备转染复合物时要求用无血清培养基稀释 DNA 和转染试剂，因为血清会影响复合物的形成。确保细胞培养液没有被细菌、真菌或支原体污染。转染时培养液中不添加抗生素。
5. 试剂用量的优化：DNA 浓度和转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响，初次使用应优化 DNA 浓度和转染试剂量以得到最大的转染效率。使用者可尝试每 1 μg DNA 使用 1–4 μL 体积转染试剂进行优化。DNA 和转染试剂的比例，通常推荐是 1:2–1:5。