

HaoKe® Universal Transfection Reagent

HaoKe®通用型转染试剂

产品简介

HaoKe® Universal Transfection Reagent 是一种多用途的脂质体转染试剂，用于向几乎所有常见细胞系和多种难以转染的细胞系中进行 DNA、siRNA 和 mRNA 的转染。并支持快速转染程序，可以缩短您的转染时间，适配高通量、自动化筛选。

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Universal Transfection Reagent	HKC003-0.5 mL	0.5 mL
	HKC003-1.5 mL	1.5 mL

储存方式

2-8°C 保存，不可冷冻。

使用说明

操作前注意事项

1. 为降低细胞毒性，细胞铺板时需要更换不含抗生素的培养基。对于质粒 DNA 转染，细胞密度需达到 70-90%，有些细胞在密度偏低时容易出现细胞毒性；
2. 制备核酸稀释液和转染试剂稀释液时应使用减血清的 Opti-MEM™ 培养基或不含血清和抗生素的培养液，因为血清会影响核酸与转染试剂复合物的形成；
3. 一般情况下，转染后无需更换培养基。然而，有些细胞对转染试剂比较敏感，如果在转染后状态不佳，可在 4-6 小时后对细胞进行换液，转染效率无明显影响；
4. 首次使用该试剂或者更换细胞类型，特别是对转染试剂敏感的细胞，需要进行预实验，使用不同剂量的转染试剂进行实验，以便摸索出最适转染试剂用量。DNA 的转染量可以在 DNA: Universal Transfection Reagent ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) = 1:1-1:5 之间摸索。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套；
6. 本产品仅用于科研。

操作步骤

一、DNA 转染

(以 24 孔板转染 DNA 为例的操作步骤)

Day 1:

在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70-90%。

Day 2:

1. DNA 稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ 培养基中加入 0.5 μ g DNA 后轻柔混匀, 得到 DNA 稀释液;
2. 转染试剂稀释液制备: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ 培养基中加入 1 μ L Universal Transfection Reagent, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 分钟;
3. DNA-脂质体复合物制备: 将 DNA 稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 分钟, 形成 DNA-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
4. 将 DNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4-6h 后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 24-48 h。

优化 DNA 转染: 为获得较高的转染效率和较低的细胞毒性, 通过改变细胞密度以及 DNA 和 Universal Transfection Reagent 浓度来优化转染条件。确保细胞汇合度大于 90%, 并在 1:0.5 至 1:5 的范围内改变 DNA (μ g):Universal Transfection Reagent (μ L) 比。

二、siRNA 转染

(以 24 孔板转染 siRNA 为例的操作步骤)

Day 1 :

在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 30-50%。注: 在更低密度时进行转染可以让转染和检测之间的时间间隔更长, 并且使因细胞过量生长造成的细胞活力损失更小。

Day 2:

1. 将 siRNA 的储液用 DEPC 水稀释到 20 μ M;
2. siRNA 稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ 培养基中加入 1 μ L siRNA (20 μ M) 后轻柔混匀, 得到 siRNA 稀释液;
3. 转染试剂稀释液制备: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ 培养基中加入 1 μ L Universal Transfection Reagent, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 分钟。
4. siRNA-脂质体复合物制备: 将 siRNA 稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 分钟, 形成 siRNA-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
5. 将 siRNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4-6 h 后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 48-96 h。

优化 siRNA 转染: 为获得较高的转染效率和较低的非特异性效应, 通过改变 siRNA 和 Universal Transfection Reagent 浓度来优化转染条件。对于 24 孔板, 在 10-50 pmol siRNA 和 0.5-1.5 μ L Universal Transfection Reagent 范围内优化转染条件。根据靶基因和靶细胞的性质, 在优化条件时也可考虑以更高密度转染细胞。

三、mRNA 转染

(以 24 孔板转染 mRNA 为例的操作步骤)

Day 1:

在 500 μL 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70-90%。

Day 2:

1. mRNA 稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μL Opti-MEM™ 培养基中加入 0.8 μg mRNA 后轻柔混匀, 得到 mRNA 稀释液;
2. 转染试剂稀释液制备: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μL Opti-MEM™ 培养基中加入 1.6 μL Universal Transfection Reagent, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 分钟;
3. mRNA-脂质体复合物制备: 将 mRNA 稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 分钟, 形成 mRNA-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
4. 将 mRNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4-6 h 后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 24-48 h。

优化 mRNA 转染: 为获得较高的转染效率和较低的细胞毒性, 通过改变细胞密度以及 mRNA 和 Universal Transfection Reagent 浓度来优化转染条件。确保细胞汇合度大于 90%, 并在 1:0.5 至 1:5 的范围内改变 mRNA(μg): Universal Transfection Reagent (μL) 比。

扩大或缩小转染规模

在不同规格培养容器中转染细胞, 按表中所示根据相对表面积按比例改变 Universal Transfection Reagent、核酸、细胞和培养基的用量。对于自动化、高通量系统, 在 96 孔板中进行转染时, 建议采用 10 μL 的稀释体积。

培养规格	培养基体积	稀释液体积	DNA 转染体系		siRNA 转染体系		mRNA 转染体系	
			DNA	Transfection Reagent	siRNA	Transfection Reagent	mRNA	Transfection Reagent
96-well	100 μL	2 \times 5 μL	0.1 μg	0.2 μL	5 pmol	0.25 μL	0.2 μg	0.4 μL
24-well	500 μL	2 \times 25 μL	0.5 μg	1.0 μL	20 pmol	1.0 μL	0.8 μg	1.6 μL
12-well	1 mL	2 \times 50 μL	1.0 μg	2 μL	40 pmol	2.0 μL	1.6 μg	3.2 μL
6-well	2 mL	2 \times 100 μL	2.5 μg	5 μL	100 pmol	5 μL	4 μg	8 μL
6-cm dish	3 mL	2 \times 200 μL	5 μg	10 μL	200 pmol	10 μL	8 μg	16 μL
10-cm dish	10 mL	2 \times 500 μL	15 μg	30 μL	600 pmol	30 μL	24 μg	48 μL

四、DNA、siRNA / shRNA 质粒共转染

(以 24 孔板共转染 DNA、siRNA 为例的操作步骤)

Day 1:

在 500 μL 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70-90%。

Day 2:

1. 建议将 siRNA 的储液用 DEPC 水稀释到 2 μM (视情况而定);
2. 核酸稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μL Opti-MEM™ 培养基中加入 100 ng 质粒 DNA 和 2.5 μL siRNA (2 μM) 后轻柔混匀, 得到核酸稀释液;

3. 转染试剂稀释液制备：另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管，向 25 μ L Opti-MEM™培养基中加入 1 μ L Universal Transfection Reagent，轻柔混匀，得到转染试剂稀释液，室温静置 5 分钟。

4. 核酸-脂质体复合物制备：将核酸稀释液和转染试剂稀释液混合，轻柔混匀，室温静置 10 分钟，形成核酸-脂质体复合物（溶液可能变得浑浊）；

5. 将核酸-脂质体复合物均匀滴加入细胞中，以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养，为保证足够的营养，建议 4-6 h 后对细胞进行换液，随后继续培养至鉴定时间，一般需要 24-48 h。

建议的试剂用量和体积：

培养规格	培养基体积	稀释液体积	质粒 DNA(ng)	siRNA / shRNA 质粒 (pmol / ng)	Transfection Reagent
96-well	100 μ L	2 \times 5 μ L	10-100 ng	0.1-1 pmol / 150-300 ng	0.2-0.5 μ L
48-wel	200 μ L	2 \times 12.5 μ L	50-100 ng	0.5-5 pmol / 150-300 ng	0.3-0.8 μ L
24-well	500 μ L	2 \times 25 μ L	100-200 ng	1-10 pmol / 300-600 ng	0.5-1.5 μ L
12-well	1 mL	2 \times 50 μ L	200-500 ng	2-25 pmol / 600-1500 ng	1-2.5 μ L
6-well	2 mL	2 \times 200 μ L	500-1000 ng	5-50 pmol / 1500-3000 ng	2.5-6 μ L

五、快速转染程序（反向转染）

对于高通量、自动化筛选等一些实验场景，我们推荐使用快速转染程序。您可以通过将细胞直接铺板到转染混合物中，进行快速 96 孔板转染。在平板中制备复合物，并向 100 μL 体积中直接添加密度为基础方案中规定的细胞密度的两倍的细胞。在存在复合物的情况下，细胞将照常贴壁。

注：对于更大规模的转染，也可尝试快速转染程序，以缩短实验周期。