

UltraFectin® 转染试剂套装

货号：F1153A

规格：UltraFectin®转染试剂 1000 μL；转染优化试剂 500 μL

储藏条件：2 ~ 8 °C，避光，绝对避免冷冻

运输条件：冰袋，绝对避免冷冻

用途：供科研或生产使用

产品特点及注意事项

UltraFectin® 转染试剂是一种多用途阳离子脂质体混合物，可在各种贴壁和悬浮细胞系中实现高效转染。适用于瞬时表达或建立稳定细胞系，同时具备出色的 siRNA 和质粒 DNA 转染性能。是共转染的最佳选择。亦适用于高通量操作。

核酸-UltraFectin® 转染试剂复合物能直接加入培养的细胞中，使用简单便捷。

转染过程中请勿向培养基中添加抗生素，以免造成细胞死亡。

建议使用源培 UltraFectin® MEM 转染专用减血清培养基（Cat.No.L530JV）来稀释核酸和 UltraFectin® 转染试剂。其他无血清培养基请检测其与 UltraFectin® 转染试剂的兼容性，因为某些无血清培养基（如 CD293, SFM II, VP-SFM）可能会抑制阳离子脂质体介导的转染。

不同的细胞类型和传代数可能导致不同的转染效率，所以建议在做新的转染实验时至少用 4 个不同浓度的转染试剂作为对照以获得最优实验条件。

通常转染优化试剂的使用量为 UltraFectin®转染试剂的一半。

质粒 DNA 的转染

参照下列步骤，将 DNA 转染至哺乳动物细胞（以 24 孔板为例，其他规格的转染请参考附表）。这里所有的用量及体积均为每孔的数据。对于大多数细胞系的转染，DNA（μg）和 UltraFectin® 转染试剂（μL）的比值推荐为 1：2 到 1：3。通常，高细胞密度的转染能达到更高的转染效率和表达水平，以及较低的细胞毒性。（首次转染的细胞系建议进行优化实验）

1、接种细胞：

贴壁细胞：转染前 1 天，每孔 0.5 - 2×10⁵ 个细胞接种于 500 μL 培养基（推荐源培 UltraFectin® MEM 转染专用减血清培养基）中，这样在转染时，细胞就能够达到 70-90%汇合度。

悬浮细胞：在制备转染复合物之前每孔接种 4-8×10⁵ 个细胞与 500 μL 减血清培养基即可。

2、转染复合物的制备：

A、将 0.8 μg 质粒 DNA 以及 1 μL 的转染优化试剂一同稀释到 50 μL 减血清培养基（或者其他不含血清的培养基）中，轻轻混匀，室温孵育 5 分钟。

B、轻轻摇匀 UltraFectin® 转染试剂，然后取 2 μL 的 UltraFectin® 转染试剂稀释到

50 μL 减血清培养基中，室温孵育 5 分钟。注意：请在 25 分钟内进行步骤 C。

C、将 A 步骤所得的 DNA-转染优化试剂混合物和 B 步骤所得的 UltraFectin® 转染试剂轻轻混合（总体积为 100μL）室温孵育 5 分钟（溶液可出现浑浊）。

注意：转染复合物在室温下能保持 6 小时稳定。

3、将 100μL 转染复合物加到含有细胞和减血清培养基的培养孔中，前后摇晃培养板混匀。

4、在 CO2 培养箱中 37°C 培养 18 - 48 小时，检测基因表达情况。（培养过程中，每隔 6 小时可视细胞生长状况更换培养基）

5、对于稳定的细胞系：完成转染之后，用新鲜的生长培养基按 1：10 稀释进行传代培养。若需要，后期也可以用选择培养基进行培养。

质粒 DNA 转染的优化

为了获得最高的转染效率和最低的细胞毒性，可以通过改变细胞密度、DNA 和转染试剂的浓度来筛选出最优的转染条件。一般建议接种贴壁型细胞使转染前达到 90%以上汇合度为最好，DNA（μg）；UltraFectin® 转染试剂（μL）从 1：0.5 到 1：5 之间进行调整。

若需要进行质粒 DNA 和 siRNA 的共转染，其使用参考值为每 1mL DNA 混合 30pmol（-0.6 μg）siRNA。

siRNA 的转染

参照下列步骤，将 siRNA 转染至哺乳动物细胞（以 24 孔板为例，其他规格的转染请参考附表）。这里所有的用量及体积均为每孔的数据。（如果是首次转染的细胞系，建议进行优化实验）

1、接种细胞：

贴壁细胞：转染前 1 天，每孔 0.5 - 2×10⁵ 个细胞接种于 500 μL 培养基（推荐源培 UltraFectin® MEM 转染专用减血清培养基）中，这样在转染时，细胞就能够达到 70 - 90%汇合度。

悬浮细胞：在制备转染复合物之前每孔接种 4-8×10⁵ 个细胞于 500 μL 减血清培养基中即可。

2、 转染复合物的制备：

- A、 将 20 pmol siRNA (转染时终浓度为 33nM) ,以及 1μL 的转染优化剂稀释到 50μL 减血清培养基 (或其他无血清培养基) 中, 室温孵育 5 分钟。
- B、 使用前轻轻摇匀 UltraFectin® 转染试剂 ,然后取 1μL 稀释到 50μL 减血清培养基中, 室温孵育 5 分钟。注意：请在 25 分钟内进行步骤 C。
- C、 将 A 步骤所得的 siRNA-转染优化试剂混合物和 B 步骤所得的 UltraFectin® 转染试剂混合 (总体积为 100μL) ,轻轻混匀, 室温孵育 5 分钟 (溶液可能出现浑浊) 。

- 3、 将 100μL 转染复合物加到含有细胞和减血清培养基的培养孔中, 前后摇晃培养板混匀。在 CO2 培养箱中 37°C 培养 24-96 小时可进行基因沉默等分析工作(培养过程中, 每隔 6 小时可视细胞生长状况更换培养基) 。

siRNA 转染的优化

为获得最高的转染效率和较低的非特异性反应, 可通过调整 siRNA 和转染试剂的浓度进行优化, 在 24 孔板中, siRNA 在 10-50pmol 之间, 转染试剂在 0.5-1.5μL 之间进行调整。

转染规模的放大和缩小 (附 1)

不同的培养器皿, 转染复合物、细胞和培养基的用量根据表面积进行换算, 见下表 (供参考) 。

注意：若要实现 96 孔板的快速转染, 可在 96 孔培养板中每孔制备转染复合物 100μL, 再将细胞直接加入转染复合物中, 其密度应为上述方法的 2 倍, 细胞可在转染复合物中正常贴壁。

附 1：

(质粒) DNA 转染		siRNA 转染		培养器皿	每孔 (皿) 表面积	接种用培养基	稀释用培养基
DNA	UltraFectin® 转染试剂	RNA	UltraFectin® 转染试剂				
0.2 μg	0.5 μL	5 pmol	0.25 μL	96 孔板	0.3 cm ²	100 μL	2×25 μL
0.8 μg	2.0 μL	20 pmol	1.0 μL	24 孔板	2 cm ²	500 μL	2×50 μL
1.6 μg	4.0 μL	40 pmol	2.0 μL	12 孔板	4.5 cm ²	1 mL	2×100 μL
4.0 μg	10 μL	100 pmol	5 μL	6 孔板	9.6 cm ²	2 mL	2×250 μL
8.0 μg	20 μL	200 pmol	10 μL	60mm 培养皿	21 cm ²	5 mL	2×0.5 mL
24 μg	60 μL	600 pmol	30 μL	100mm 培养皿	55 cm ²	15 mL	2×1.5 mL

注：培养基、DNA/RNA、转染试剂均为每孔 (皿) 的用量；核酸和转染试剂的量为推荐值, 首次转染的细胞系需要进行优化实验。

附 2：实验流程

