

| 货号 | 名称 | 规格 | 应用 |
|--------------|------------------------------------|--------|--------|
| SP00501-1500 | SP-DNA Transfection Reagent 1.5 mL | 1.5 mL | DNA 转染 |

SP-DNA Transfection Reagent

产品说明书

1.产品描述:

SP-DNA Transfection Reagent 是一款基于阳离子聚合物的高效转染试剂，其转染原理是带正电的阳离子聚合物与核酸中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，并通过胞吞作用进入细胞。

2.应用范围:

SP-DNA Transfection Reagent 是一种高效转染试剂，特别适用于 HEK293 和 CHO 悬浮细胞转染，可转染多种真核细胞，昆虫细胞和难转染细胞系（包括293、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH-3T3、Sf9、HepG2 和 HeLa 等细胞）。

3.转染流程:

细胞铺板

接种细胞：转染前 18-24 小时进行细胞的铺板（不含抗生素），以便在转染时，贴壁细胞的密度大约在 80% 左右。悬浮细胞，转染当天，每 500 μ L 生长培养基中加入 $4-8 \times 10^5$ cells。

【注】：可用于有血清培养基的转染，转染接种前不需要换培养基。但是，制备转染复合物时需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。

转染复合物的制备

a.将每 1 μ g 质粒 DNA 稀释到 40 μ L 无血清的 DMEM 高糖培养基，轻轻混匀。

b.将每 3 μ L 转染试剂稀释到 40 μ L 无血清的 DMEM 高糖培养基，轻轻混匀。

【注】：制备转染复合物时需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。

对大多数细胞来而言，每 1 μ g DNA 使用 3.0 μ L SP-DNA 转染试剂都能获得较高转染效率。使用者可根据转染经验，每 1 μ g DNA 使用 1~4 μ L SP-DNA 转染试剂进行优化。

c.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】：此混合的顺序不能反向进行。

d.室温放置 10-15 min，以形成转染复合物。

转染过程

a.在每孔细胞中加入特定体积转染复合物，轻轻摇匀。

b.转染 6-8 小时后可更换成完全培养基。

c. 37 $^{\circ}$ C 培养 24-72 小时检测 mRNA 表达，48-96 小时检测蛋白表达。

【注】：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）。如有可能，请通过琼脂糖凝胶电泳检测



质粒的完整性。

| 培养板 | 培养孔面积 | 接种培养液 | 稀释用无血清培养基 | DNA 转染 | |
|-------|----------------------|--------|-----------|--------|--------|
| | | | | DNA | 转染试剂 |
| 96 孔板 | 0.3 cm ² | 100 μL | 2×20 μL | 0.2 μg | 0.6 μL |
| 24 孔板 | 2.0 cm ² | 500 μL | 2×40 μL | 1 μg | 3 μL |
| 12 孔板 | 4.0 cm ² | 1 mL | 2×60 μL | 1.5 μg | 4.5 μL |
| 6 孔板 | 10.0 cm ² | 2 mL | 2×200 μL | 3 μg | 9 μL |
| 60 mm | 20.0 cm ² | 5 mL | 2×0.5 mL | 6 μg | 18 μL |
| 10 cm | 60.0 cm ² | 15 mL | 2×1 mL | 12 ug | 36 μL |

4.产品储存:

SPERIKON 转染试剂可在室温下运输，到货后 4°C 可保存 1 年，本产品已滤菌，使用前轻轻摇匀。冬季寒冷，如果出现冻结的现象，要将本产品恢复至室温后使用。

免责声明：本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

5.FAQ:

1. PEI 需要特定的培养基吗？

是的，PEI 与 DNA 形成的复合物对培养基中的成分较为敏感。通常建议在无血清或低血清条件下进行转染，以避免培养基中的蛋白质与复合物发生干扰。完成转染后可以换回含血清的完全培养基以促进细胞的存活和后续生长。

2. PEI 转染后的 DNA 稳定性如何？

PEI 转染的 DNA 表达一般较短暂，适合于瞬时转染实验。如果需要长期稳定表达，通常需要将转染后的细胞进行筛选，获得稳定表达的细胞株。通过优化实验条件，可以显著提高 PEI 转染的效率和稳定性，同时减少对细胞的毒性影响。

3. 转染形成复合物的时候过量加入的 DNA 和转染试剂的量比较多时候有沉淀絮状物析出，为什么呢？

在形成 PEI-DNA 复合物时，溶液的 pH 值不稳定可能导致复合物形成不完全或沉淀。也可能是 DNA 的纯度不是很纯，有杂质，某种物质引起的 PEI 析出浑浊，如果把 DNA 的量降下来会减少这种现象。不建议转染的时候加入过多的质粒和转染试剂。

4. PEI 转染质粒失败了，可能有哪些原因？

PEI 是一种阳离子聚合物，碱性条件下容易失去正电荷，从而降低其转染效率。因此，建议调 PH 的时候，尽量避免碱性环境过久停留，若使用氢氧化钠调节之后溶液变浑浊了，建议先可以用盐酸调到 PH 2-3 左右，溶液变为澄清液体，然后再用氢氧化钠调节 PH=7 左右即可。



5.本产品可以转染 siRNA 吗？

转染 RNA 理论上可以转染，siRNA（小干扰 RNA）主要用于研究基因功能，与脂质体转染试剂类似，转染试剂的细胞毒性对判定小 RNA 的功能，可能有干扰，需要通过预实验来具体判别，

6.铺板细胞一定不能加抗生素吗？

PEI 是一个高阳离子聚合物，它能够与细胞膜上的负电荷相互作用，破坏细胞膜的完整性，在接种过程中，细胞的通透性增加，抗生素可能进到细胞内，对细胞状态理论上存在影响，如若必须添加，建议在转染 48h 后加入抗生素。

7.转染复合物室温可以放多久？

转染复合物的最佳放置时间是 10-20 分钟，长时间放置会显著地降低转染效率，请务必控制放置时间在 20 分钟之内。

