

# AccuFect 细胞转染试剂盒 (纳米聚合物法)

AccuFect Cell Transfection Kit ( Nanopolymers )

Code No. AG51003

**包装量:** 100 rxns / 6 well plate  
**保存温度:** -20 °C

## ➤ 产品概述

本产品是一种由纳米聚合物组成的转染试剂，适用于将质粒DNA转染到真核细胞中。其原理是质粒DNA与纳米聚合物形成多聚复合物，附着于细胞膜表面，在细胞内吞作用下进入到细胞内，在细胞中转录和表达。该方法对于常见的哺乳动物细胞具有较高转染效率、重复性好、操作简单、无明显的细胞毒性等特点。本产品基本不受细胞培养液中血清和抗生素的影响，即可在血清和抗生素存在的情况下进行细胞转染。

## ➤ 保存及运输

保存温度：-20 °C保存

运输温度：干冰运输或-20°C冰袋运输

## ➤ 产品组成

NanoFect Reagent	150 μ l X 2 pcs
NanoFect Buffer	5 ml X 2 pcs

## ➤ 注意事项

1. 实验过程中所使用的耗材需保证无菌污染；实验过程中请佩戴一次性手套等防护用品，避免造成细胞污染；
2. 初次实验可考虑利用带有荧光标签的质粒对细胞密度、转染试剂以及DNA的添加量进行摸索，找出目的细胞的最佳转染条件；
3. 细胞生长状态会直接影响转染效率。因此，转染实验应使用生长健康且状态良好的细胞，转染时细胞融合度达到50%~80%，具体密度根据培养的细胞进行调整；
4. NanoFect Reagent 使用完后盖紧盖子，并放回含有干燥剂的包装袋中，避免吸潮；
5. 本产品的实验以及分装均需在超净工作台完成。

## ➤ 实验操作 (以6孔板为例)

此操作方法以6孔细胞培养板的单孔为例，其他类型培养皿或培养板可参考下表进行调整；以下所有操作建议在无菌操作台中进行。

培养皿	推荐质粒用量 ( μ g )	可摸索质粒添加范围*( μ g )	NanoFect Buffer ( μ l )	NanoFect Reagent ( μ l )
48-well	0.5	0.25~1.25	Up to 12.5 μ l	0.2
24-well	1	0.5~2.5	Up to 25 μ l	0.4
12-well	2	1~5	Up to 50 μ l	0.8
6-well	5	2.5~12.5	Up to 100 μ l	2

注：上表中均表示单孔所需试剂量。

1. 转染前一天接种适量细胞于培养皿或培养板内，使细胞在转染前汇合度达到50%~80%。  
(注：一般6孔板可接种 $2-8 \times 10^5$ 细胞/孔，不同类型的细胞生长速度和细胞大小不一致，建议在正式实验前可接种不同密度的细胞，摸索最佳的细胞接种密度。)
2. 转染前，提前将转染试剂取出，待其恢复至室温后再进行后续转染实验。
3. 取干净无菌的离心管，对于每孔待转染的细胞，在无菌离心管中添加 $5 \mu\text{g}$  DNA 质粒使用 *NanoFect* Buffer 稀释至 $100 \mu\text{l}$ ，用移液器轻柔吹打混匀10~15次。  
(注：不同的细胞最佳转染条件不一样，若使用推荐用量所得到的转染效果不理想则可根据上表中推荐的“可摸索质粒添加范围”调整质粒用量。若初次转染后，细胞脱落情况明显，则可降低 *NanoFect* Reagent 添加量再进行尝试。)
4. 涡旋混匀 *NanoFect* Reagent 溶液，取 $2 \mu\text{l}$  *NanoFect* Reagent 加入至已使用 *NanoFect* Buffer 稀释的DNA质粒中，轻柔涡旋混匀。
5. 在室温下孵育10~20分钟，形成转染复合物。孵育结束后用移液器吹打混匀。  
(注：室温下 *NanoFect* Reagent 与质粒DNA孵育时间最好不要超过30分钟。)
6. 去掉待转染细胞孔中的一半培养基。  
(注：可将细胞培养基更换成无血清培养基，可能会提高转染效率，但也可能会影响细胞的生长状态。)
7. 按照  $100 \mu\text{l}$  / 孔将孵育后的转染复合物均匀滴加在细胞培养板中，轻轻前后左右晃动培养板，使转染复合物均匀的分布在细胞表面。  
(注：混匀时避免旋转培养皿或培养板，防止沉淀集中于孔中间。)
8. 将细胞培养板置于 $37^\circ\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中继续培养4小时。  
(注：不同的细胞系最佳的孵育时间可能会有所不同，可根据实际情况在4~8 h 范围内调整优化。)
9. 然后去掉含有转染试剂的培养基，更换成2 ml 新鲜完全培养基。根据实验需要置于培养箱中继续培养24~72 h，收集细胞进行基因表达情况检测，通常在转染24 h 后就可检测到转染基因的表达。

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。  
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.