

# Meilunbio<sup>®</sup>高效细胞转染试剂

产品编号: MA3000 规格: 1mL/1mL×5/50mL

#### 产品内容

| 产品组成                            | MA3000-1 | MA3000-2 | MA3000-3 |
|---------------------------------|----------|----------|----------|
| Meilunbio <sup>®</sup> 高效细胞转染试剂 | 1mL      | 1mL×5    | 50mL     |
| 说明书                             | 1 份      | 1 份      | 1 份      |

### 产品简介

Meilunbio<sup>®</sup>高效细胞转染试剂是一款美仑生物全栈自研的新型核酸转染试剂。经 30 余种细胞测试,其效果达到甚至超过了目前主流转染试剂,完美适配 DNA、mRNA 及 siRNA 的高效细胞转染需求,并且血清和抗生素兼容,有利于维持细胞的最佳状态。

本产品使用非常简便,无需对转染试剂进行稀释:可将计算量转染试剂直接加入到核酸稀释液中, 孵育 10-15 分钟即可加样。

本产品适用范围: 大多数常规细胞、难转染细胞、原核细胞及干细胞的转染。

本产品为无菌溶液。一般条件下24孔板转染,每次使用约2µL,则1mL规格可做约500次转染。

## 使用说明

- 1. 细胞铺板(铺板前,细胞须处于良好生长状态),待其细胞融合度达60-80%时,开始转染工作;
- **2**. 细胞换液(仅针对前一晚铺板、次日转染;若当天铺板、转染可无需换液),使用等体积新鲜完全培养基置换部分细胞原有上清(正常含血清和抗生素的完全培养基);
- 3. 参考表1或表2,使用Optimal-MEM培养基(美仓货号: PWL041或PWL042)稀释DNA/mRNA或siRNA,移液枪轻轻吹打混匀,得到核酸稀释液;
- 4. 随后,直接向核酸稀释液中加入计算量的转染试剂(无需Optimal-MEM再稀释),移液枪轻轻吹打混匀;
  - 5. 室温静置孵育10-15分钟,即可得到转染试剂/核酸复合物;
  - 6. 将转染试剂/核酸复合物逐滴加至细胞上清,轻摇混匀;
- 7. 继续培养约12-48小时后,可通过荧光显微镜、流式细胞仪、Western Blot、ELISA法或报告基因检测法对转染效果进行表征。

表1. 不同细胞培养器皿中DNA或mRNA及转染试剂用量参考表(仅供参考)

|  | 操作步骤                                | 96-well | 48-well | 24-well | 12-well | 6-well | 6cm dish | 10cm dish |
|--|-------------------------------------|---------|---------|---------|---------|--------|----------|-----------|
| 1  | Optimal-MEM 培养基                     | 5µL     | 12.5µL  | 25µL    | 50µL    | 125µL  | 250µL    | 500µL     |
| 2  | DNA 或 mRNA                          | 0.1µg   | 0.25µg  | 0.5µg   | 1µg     | 2.5µg  | 5µg      | 15µg      |
| 3  | 转染试剂                                | 0.4µL   | 1µL     | 2µL     | 4µL     | 10µL   | 20µL     | 60µL      |
| 加入 DNA 或 mRNA 后轻吹打混匀,加入转染试剂后轻吹打混匀,室温孵育 10-15 分钟即可使用。 |                                     |         |         |         |         |        |          |           |
| 4  | 每孔复合物加入量                            | 5µL     | 12.5µL  | 25µL    | 50µL    | 125µL  | 250µL    | 500µL     |
| 🖢  | 按上述用量,每孔均匀滴加复合物,放回培养箱直接继续培养,通常无需换液。 |         |         |         |         |        |          |           |







| 表つ | 不同细胞培养器皿中siRNA及转染试剂用量参考表 | ( 仅 仕 矣 老 ) |
|----|--------------------------|-------------|
|    |                          |             |

|   | 操作步骤                                | 96-well | 48-well | 24-well | 12-well | 6-well | 6cm dish | 10cm dish |
|---|-------------------------------------|---------|---------|---------|---------|--------|----------|-----------|
| 1   | Optimal-MEM 培养基                     | 5µL     | 12.5µL  | 25µL    | 50µL    | 125µL  | 250µL    | 500µL     |
| 2   | siRNA                               | 3pmol   | 7.5pmol | 15pmol  | 30pmol  | 75pmol | 150pmol  | 450pmol   |
| 3   | 转染试剂                                | 0.2µL   | 0.5µL   | 1µL     | 2µL     | 5µL    | 10µL     | 30µL      |
| 加入 siRNA 后轻吹打混匀,加入 MA3000 后轻吹打混匀,室温孵育 10-15 分钟即可使用。 |                                     |         |         |         |         |        |          |           |
| 4   | 每孔复合物加入量                            | 5µL     | 12.5µL  | 25µL    | 50µL    | 125µL  | 250µL    | 500µL     |
| 4   | 按上述用量,每孔均匀滴加复合物,放回培养箱直接继续培养,通常无需换液。 |         |         |         |         |        |          |           |

### 保存条件

-20℃,自生产之日起 12 个月有效。建议第一次使用时按照每次实验所需量进行分装保存。若短期使用,可保存于 2~8℃,5 个月有效;若想长期保存,可置于-80℃,24 个月有效。

#### 注意事项

- 1、本产品的推荐用量: ①DNA或mRNA: DNA或mRNA/转染试剂=1:4(μg/μL),但转染试剂使用量受细胞类型及其他实验因素影响,建议初次使用时可固定核酸用量(如: 96孔板,推荐100ng),在DNA或mRNA/转染试剂=1:0.5~1:7(μg/μL)的范围内,设置转染试剂用量梯度,以筛选出最佳转染用量。②siRNA: 在正式实验前,建议通过转染荧光修饰siRNA、流式或荧光显微镜考察细胞siRNA摄取量来确定合适的转染试剂/siRNA比例以及siRNA用量,因为有效的细胞内siRNA摄取是siRNA高效敲低目标蛋白的关键前提。
- 2、DNA或mRNA的初始储备浓度宜控制在0.5-5μg/μL范围内; siRNA的推荐浓度为15μM, 但仍需根据目标靶点的敲减难易程度,在10-50μM范围内进行微调; 调整时,转染试剂与siRNA的用量比例尽量保持不变。
- 3、细胞生长状态非常影响转染效率!请务必选择传代次数相对较少、且生长状态良好的细胞开展相关实验!
- 4、细胞培养基的pH值偏低(颜色偏黄),会显著影响转染效果;如若此时不好完全换液,可选择半数换液法:即吸走一半上清,补加一半完全培养基。
- 5、建议在首次实验时, 先于96孔板内摸索、确定最优核酸/转染试剂比例, 之后再于大体系中开展实验。
- 6、个别细胞(如HeLa、A549、THP-1、CHO-K1、HEK 293T等)比较敏感,会因单位细胞DNA摄入量过高而产生DNA毒性(非转染试剂原因);此时,可通过提高细胞密度,或降低DNA使用量,或在转染6h后换液等操作,来降低单位细胞DNA摄入量以降低DNA毒性;同时,选择在转染后12-24小时内对细胞进行检测处理。mRNA转染无此问题。若上述方法仍无法改善,建议更换新细胞(前期测试中遇到过3次以上细胞问题导致难转染),或检测细胞是否有支原体等微生物感染并加以清除后再开展实验。
- 7、经测试,本产品在室温放置1周后,仍能保持良好转染效果。
- 8、本产品为无菌包装,无需过滤,请注意无菌取用。
- 9、为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

