Meiluncell®昆虫细胞专用转染试剂

产品编号：PWL366　　规格：20μL /1mL

产品内容

产品组成	PWL366-1	PWL366-2
Meiluncell®昆虫细胞专用转染试剂	20μL	1mL
说明书	1 份	1 份

产品简介

Meiluncell®昆虫细胞专用转染试剂是一款美仑生物全栈自研的新型昆虫重组杆粒（Bacmid）转染试剂。经多种重组杆粒测试，其效果达到甚至超过了目前主流转染试剂，完美适配将杆状病毒表达载体质粒 DNA 转染到 Sf9 等昆虫细胞，并且兼容国内外主流昆虫细胞专用培养基，是进口昆虫转染试剂的强有力国产替代产品。

本产品具有极好的稳定性，可短期内室温放置 3-4 周，不影响其重组杆粒转染效果，但需拧紧盖子，防止溶剂挥发（本品含 70%乙醇，溶剂挥发会引起产品浓度增大，但不影响效果，届时重新摸索合适的转染试剂/重组杆粒比例即可）。

本产品适用范围：Sf9、ExpiSf9等昆虫细胞。

本产品推荐使用量：转染试剂/重组杆粒/培养基=2μL/1μg/1mL（根据昆虫细胞类型及培养状态，亦可在转染试剂/重组杆粒=1μL-3μL/1μg范围内调整）。

本产品为无菌溶液。一般条件下，5mL悬浮昆虫细胞培养体系，每次使用约10μL，则1mL规格可做约100次转染。

使用说明

（一）悬浮昆虫细胞转染：

1. 取悬浮培养状态下生长良好的昆虫细胞（活率≥98%），调整其密度至2.5×10^6 cells/mL，开始转染工作。

2. 转染试剂/重组杆粒复合物配制：通常，重组杆粒/培养基=1μg/1mL，以5mL待转染悬浮昆虫细胞为例：

（1）准备 1 个无菌 EP 管，加入 500μL Optimal-MEM 培养基（美仑货号：PWL041 或 PWL042）。

（2）加入 5μg 待转染重组杆粒，轻吹混匀。

（3）向稀释的重组杆粒中加入 10μL 转染试剂（亦可 5-15μL 范围内调整），轻吹混匀。

（4）室温孵育 10-15min。

3. 将转染试剂/重组杆粒复合物逐滴加至含昆虫细胞悬液中，轻摇混匀。

4. P0代BV病毒生产：继续培养约96小时后（P0-96h），离心取细胞培养基上清，可通过ELISA法检测培养基上清中GP64蛋白含量，其与P0代BV病毒浓度呈正相关，即与转染试剂效果呈正相关。

5. P1代BV病毒生产：按3%体积比，将P0-96h上清接种至新鲜且生长状态良好的昆虫细胞悬液（细

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品用途

胞密度：2.5×10^6 cells/mL）中，继续培养48小时，离心取细胞培养基上清，获得P1代BV病毒（P1-48h），可通过ELISA法检测培养基上清中GP64蛋白含量，其与P1代BV病毒浓度呈正相关；亦可通过荧光显微镜、流式细胞仪、Western Blot、ELISA法或报告基因检测法对P1-48h的昆虫细胞进行目标蛋白表征，其与P0代BV病毒浓度呈正相关，即与转染试剂效果呈正相关。

6. P2代BV病毒生产：按1.5%体积比，将P1-48h上清接种至新鲜且生长状态良好的昆虫细胞悬液（细胞密度：2.5×10^6 cells/mL）中，继续培养48小时，离心取细胞培养基上清，获得P2代BV病毒（P2-48h），可通过ELISA法检测培养基上清中GP64蛋白含量，其与P2代BV病毒浓度呈正相关；亦可通过荧光显微镜、流式细胞仪、Western Blot、ELISA法或报告基因检测法对P2-48h的昆虫细胞进行目标蛋白表征，其与P1代BV病毒浓度呈正相关。

（二）贴壁昆虫细胞转染：

1. 细胞铺板（铺板前，细胞须处于良好的生长状态），待细胞融合度达到70%左右时，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，使用Optimal-MEM培养基（美仑货号：PWL041或PWL042）稀释重组杆粒，移液枪轻轻吹打混匀，得到杆粒稀释液。

4. 随后，直接向杆粒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/杆粒复合物。

6. 将转染试剂/杆粒复合物逐滴加至细胞上清，轻摇混匀。

7. 继续培养约96-120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重组杆粒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	10μL	25μL	50μL	100μL	250μL	500μL	1500μL
②	重组杆粒	0.2μg	0.5μg	1μg	2μg	5μg	10μg	30μg
③	转染试剂	0.4μL	1μL	2μL	4μL	10μL	20μL	60μL
加入重组杆粒后轻吹打混匀，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	10μL	25μL	50μL	100μL	250μL	500μL	1500μL
	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

2-8℃保存，避免冷冻，自生产之日起 12 个月有效。建议第一次使用时进行分装保存。短期内可室温放置 4 周，但需拧紧盖子，防止溶剂挥发（本产品含 70%乙醇，溶剂挥发会引起产品浓度增大，但不影响效果，届时重新调整合适的转染试剂/重组杆粒比例即可）。

注意事项

1、转染悬浮细胞时，本产品的推荐用量为转染试剂/重组杆粒=2μL:1μg，但受细胞类型及其他实验因素影响，建议初次使用时运用棋盘格法，比如从表2中选择几个条件，以筛选出最佳的转染条件。

表2. 转染试剂/重组杆粒/培养基用量调整参考表（仅供参考）

转染试剂体积/重组杆粒量/培养基总体积	
1μL/1μg/1mL	2μL/2μg/1mL
1.5μL/1μg/1mL	3μL/2μg/1mL
2μL/1μg/1mL（推荐）	4μL/2μg/1mL
2.5μL/1μg/1mL	5μL/2μg/1mL
3μL/1μg/1mL	6μL/2μg/1mL

2、转染贴壁细胞时，本产品的推荐用量见表1，但受细胞类型及其他实验因素影响，建议初次使用时可固定重组杆粒用量（如：96孔板，推荐200ng），在转染试剂/重组杆粒=1:1~3:1（μL/μg）的范围内，设置转染试剂用量梯度，以筛选出最佳转染用量。

Welcome to meilunbio
本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品用途