



PolyLea非脂质体转染试剂说明书

产品简介:

PolyLea非脂质体转染试剂(PolyLea Transfection Reagent)采用专利配方的阳离子聚合物为主要成分，其高度的分支结构确保了高正离子电荷密度，使得与带有负电荷的外源基因结合更有效，容易被细胞吸收，排斥少，因此能显著提高外源基因的转染效率，适合多种类型的细胞系，细胞存活率高，可以广泛用于瞬时转染和稳定转染。

PolyLea非脂质体转染试剂对于常见的哺乳动物细胞具有较高的转染效率，较好的重复性，且操作简以及单细胞毒性较小，可用于贴壁细胞和悬浮细胞，与Lipofectamine® 2000 Reagent相似。

该转染试剂转染细胞时，基本不受细胞培养液中的血清和抗生素的影响，即可以在血清和抗生素存在的情况下进行细胞转染。但为了取得最佳的转染效果，推荐转染时使用不含抗生素的含血清的细胞培养液。

产品组成:

名称 编号	ZC-A0269-0.5ml	ZC-A0269-1ml	ZC-A0269-5x1ml	Storage
PolyLea非脂质体转染试剂	0.5ml	1ml	5x1ml	4°C
使用说明书	一份			

自备材料:

1. 胰蛋白酶消化液
2. 完全培养液和不完全培养液
3. PBS

操作步骤(仅供参考):

(一)DNA转染:

1. (以12孔板为例)在转染前18~24h用胰蛋白酶消化培养细胞，取适量对数期细胞转移至12孔板中，并将细胞培养板置于37°C，5% CO₂培养箱培养，待细胞密度达到70~90%即可进行转染。后续操作步骤均按12孔板计算，如果转染器皿不同，请按比例自行调节用量。
2. 在加入待转染的DNA之前2~4h，加入1ml不含抗生素的完全培养液，置于37°C，5% CO₂培养箱培养。也可使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液，但抗生素使某些细胞转染后出现一定的细胞毒性。
3. 配制转染工作液：取两个无菌离心管，分别加入50μl不含抗生素和血清的培养液，取其中一离心管加入1.6~3 μg DNA，轻轻混匀；取另一离心管加入3 μl PolyLea非脂质体转染试剂，轻轻混匀。室温静置5min，将含有DNA的培养液用微量移液器轻轻加入含PolyLea非脂质体转染试剂的培养液中，轻轻吹打混匀，室温静置20min。
4. 将上述转染工作液逐滴滴入对应细胞培养液中，轻轻混匀后置于37°C，5% CO₂培养箱中进行培养。
5. 培养4~6h后，更换为含有血清的完全培养液。对于HeLa细胞，推荐在转染4h更换培养液；对于NIH3T3、CHO、HEK293T和HEK293FT细胞，推荐在转染6h更换培养液。
6. 继续培养24~48h后，观察或收集细胞或加入适当的筛选药物如G418等进行稳定细胞株的筛选。



不同细胞器皿转染时培养液、DNA、PolyLea非脂质体转染试剂用量表

	96-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
铺板培养液	0.15ml	0.5ml	1ml	2ml	5ml	10ml
无血清培养液	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
DNA	0.2 μ g	0.8 μ g	1.6 μ g	4 μ g	8 μ g	24 μ g
无血清培养液	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
PolyLea非脂质体转染试剂	0.4 μ l	1.6 μ l	3.2 μ l	8 μ l	16 μ l	48 μ l

注意：对于12孔板中一个孔的细胞，PolyLea非脂质体转染试剂的用量可以在3~6 μ l范围内进行适当调节，DNA用量建议在1.6 μ g，但也可在1~4 μ g范围内进行适当调节。通常DNA用量(μ g)和PolyLea非脂质体转染试剂(μ l)用量比例为1:2~6，如有必要可在1:1~10的范围内优化转染效果。为了获得最佳的转染效果，不同的细胞类型和培养条件有所不同，可在上述推荐范围内自行优化转染条件。

二. siRNA转染:

1. (以12孔板为例)在转染前18~24h用胰蛋白酶消化培养细胞，取适量对数期细胞转移至12孔板中，并将细胞培养板置于37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 培养箱培养，待细胞密度达到50~80%即可进行转染。后续操作步骤均按12孔板计算，如果转染器皿不同，请按比例自行调节用量。
2. 在加入待转染的siRNA之前2~4h，加入1ml不含抗生素的完全培养液，置于37 $^{\circ}$ C，5% CO₂培养箱培养。也可使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液，但抗生素使某些细胞转染后出现一定的细胞毒性。
3. 配制转染工作液：取两个无菌离心管，分别加入50 μ l不含抗生素和血清的培养液，取其中一离心管加入40pmol siRNA，轻轻混匀；取另一离心管加入2 μ l PolyLea非脂质体转染试剂，轻轻混匀。室温静置5min，将含有siRNA的培养液用微量移液器轻轻加入含PolyLea非脂质体转染试剂的培养液中，轻轻吹打混匀，室温静置20min。
4. 将上述转染工作液逐滴滴入对应细胞培养液中，轻轻混匀后置于37 $^{\circ}$ C，5% CO₂培养箱中进行培养。
5. 培养4~6h后，更换为含有血清的完全培养液。对于HeLa细胞，推荐在转染4h更换培养液；对于NIH3T3、CHO、HEK293T和HEK293FT细胞，推荐在转染6h更换培养液。
6. 继续培养24~48h后，观察或收集细胞。



不同细胞器皿转染时培养液、siRNA、PolyLea非脂质体转染试剂用量表

	96-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
铺板培养液	0.15ml	0.5ml	1ml	2ml	5ml	10ml
无血清培养液	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
siRNA	5pmol	20pmol	40pmol	100pmol	200pmol	600pmol
无血清培养液	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
PolyLea非脂质体转染试剂	0.25 μ l	1 μ l	2 μ l	5 μ l	10 μ l	30 μ l

注意：对于12孔板中一个孔的细胞，PolyLea非脂质体转染试剂的用量可以在1~4 μ l范围内进行适当调节，siRNA用量建议在20~80pmol范围内进行适当调节。通常siRNA用量(pmol)和PolyLea非脂质体转染试剂(μ l)用量比例20:1，如有必要可以在10~40:1范围内优化转染效果。为了获得最佳的转染效果，不同的细胞类型和培养条件有所不同，可以在上述推荐范围内自行优化转染条件。siRNA的推荐浓度为20 μ M，常用浓度范围为10~50 μ M。对于多个孔转染相同数量相同质粒的情况可以把每个孔所需的PolyLea非脂质体转染试剂和siRNA混合物分别配制，然后一起混合在同一个离心管内，后续混匀并孵育20min后，按照推荐用量滴加到细胞培养器皿内。对于其它培养板或培养器皿，各种试剂的用量可以按照细胞培养器皿的培养面积按比例进行换算。如果转染寡核苷酸或RNA等可以参考转染DNA的条件进行。

注意事项：

1. 注意无菌操作，尽量避免污染，
2. 使用高纯度DNA或RNA有助于获得较高的转染效率，同时DNA不应含有蛋白和酚。
3. 影响转染效率的因素有很多，如细胞类型、细胞状态及密度、DNA/siRNA转染量、转染试剂与DNA/siRNA比例等，应该在具体实践中优化来确定最佳转染条件。
4. 为了取得较高的转染效率，推荐使用在50代以内的细胞进行转染，转染前细胞必须处于良好的生长状态。
5. 为了取得较高的转染效率，推荐使用高纯度的质粒，OD₂₆₀/OD₂₈₀≥1.8。
6. PolyLea非脂质体转染试剂不应Vortex或离心，宜缓慢晃动混匀。
7. 在体外细胞转染试验中，可通过预实验在PolyLea非脂质体转染试剂：DNA (μ g)=2:1~6:1之间选择最佳的比例。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作