

版本号: RM150209

TianFect Transfection Reagent

TianFect转染试剂

目录号: RM204

产品内容

目录号	产品名称	包装
RM204-01	TianFect Transfection Reagent	750 μ l
RM204-02		2 \times 750 μ l

储存条件

2-8 $^{\circ}$ C 保存, 可保存1年, 不可冷冻。

产品简介

TianFect转染试剂(TianFect Transfection Reagent)是一种适合于把核酸（质粒、RNA、DNA、siRNA等）高效转染到真核细胞的阳离子脂质体转染试剂。

TianFect转染试剂不含动物源性成分，可以在含血清培养基中进行高效转染，适合绝大多数细胞系类型，并针对于部分难转染细胞（如干细胞、原代细胞）的转染特点进行优化。

产品特点

1. **更加广泛的细胞模型：**TianFect转染试剂经广泛的细胞系验证，适合绝大多数细胞系，包括贴壁细胞、悬浮细胞和部分原代细胞和干细胞来源的细胞。
2. **更高的转染效率：**在多种细胞中，TianFect转染试剂转染效率更高。
3. **更低的细胞毒性：**保证转染后的细胞正常代谢，准确呈现细胞生物学状态。
4. **操作简便快速：**方便快捷的快速优化protocol，无需洗涤和更换培养基。

部分TianFect转染试剂适用细胞

CHO-S(adherent)	hamster ovary
COS-1	monkey kidney
CHO-K1	hamster ovary
COS7-L	monkey kidney
CHO-K1	hamster ovary
293H	human kidney
293F	human kidney
293T	human kidney
HeLa	human cervical cancer
Vero	monkey kidney
NIH-3T3	mouse embryo fibroblast
MCF7	human breast cancer
A549	human lung carcinoma
Hep G2	human liver cancer
Human fibroblast cells	
New born foreskin fibroblasts	
Human neural stem cell	

快速转染方案

以24孔板培养贴壁细胞为例，如使用其它培养板，应根据转染规模调整转染试剂用量，具体可参见表1。

DAY1----转染实验准备

1. 转染前一天，取适当数量的细胞铺板在含血清培养基的24孔板中，以使细胞密度在转染当天达到70%-90%。对于大多数细胞株来说，在500 μl 的含血清培养基中铺板 $0.75\sim 8.0\times 10^5$ 细胞量即可满足实验要求。

2. 在37°C，5% CO₂培养箱中培养细胞过夜。

（悬浮细胞也可以应用此说明书进行转染优化实验，但依据细胞数量的多少，可能需要更高的DNA浓度。）

DAY2----转染实验

1. 转染实验开始前请将转染试剂放置至室温，轻弹混匀。

2. 溶解DNA溶液至室温，轻弹混匀。

3. 制备DNA/TianFect转染试剂复合物

① 在U或V型底无菌离心管中加入平衡至室温的无血清培养基(推荐使用OptiMEM[®])和1 μg 的DNA溶液，至终体积为100 μl ，轻弹混匀。

② 向①中稀释的100 μl DNA溶液中加入3 μl 的TianFect转染试剂，vortex震荡2-3 s以彻底混匀DNA/TianFect转染复合物。

③ 将上述制备的DNA/TianFect转染复合物室温静置孵育10-15 min。

④ 将DNA/TianFect转染复合物转移至细胞培养基中，24孔板每孔加入12.5-50 μl 的DNA/TianFect转染混合液，轻轻混匀（24孔板每孔细胞培养基500 μl ）。

⑤ 将加入转染混合液的细胞在CO₂培养箱中37°C培养，无须更换培养基（在4-5 h后更换培养基也不会降低转染活性）。

⑥ 对瞬时转染来说，在细胞中加入DNA/TianFect转染混合液24-72 h后，可通过分析报告基因活性，检测转染效率。对稳定表达细胞系，在开始转染一天后将细胞按1:10或更高的稀释比例传代至新培养基中，再培养一天后加入筛选抗生素，进行稳定表达需要数天或数周。

注：配制的DNA/TianFect转染复合物的总体积不能低于20 μl ，转移至细胞培养基的DNA/TianFect转染复合物的体积不能低于1 μl 。

快速转染方案流程图



向离心管中加入OptiMEM[®]和1 μ g的
DNA溶液，至终体积为100 μ l



加入3 μ l的TianFect转染试剂



Vortex振荡混匀2-3 s,
室温静置孵育10-15 min



24孔板每孔加入12.5-50 μ l DNA/
TianFect转染混合液



5% CO₂培养箱，37[°]C培养细胞24-72 h，
进行后续实验或检测操作

优化实验

为了获得最高的基因表达量和最低的细胞毒性，使转染效率达到最优，确定最佳转染条件是必不可少的步骤。细胞的数量和培养皿型号一般已定，所以TianFect转染试剂和DNA的用量是进行转染条件优化的最重要的两个参数。对于不同型号的培养板，推荐使用的转染试剂和DNA用量见表1。

表1 不同的培养板条件下每孔添加试剂的建议剂量

培养板类型	培养基体积	质粒DNA	无血清培养基体积	TIANfect 体积
96-well	100 μ l	50-200 ng	25 μ l	0.1-0.6 μ l
24-well	500 μ l	0.125-1 μ g	50 μ l	0.5-5 μ l
12-well	1 ml	0.5-2 μ g	100 μ l	1-10 μ l
6-well	2 ml	1- 4 μ g	250 μ l	2-20 μ l
60 mm	5 ml	2-8 μ g	500 μ l	12-50 μ l
100 mm	10 ml	23-36 μ g	1.5 ml	24-100 μ l

注：对于96孔板来说，应该准备的DNA/TianFect转染试剂复合物的最小体积为20 μ l。为了便于添加更低剂量的转染试剂，应利用无菌的组织培养基配制10 \times 稀释的TianFect转染试剂，然后添加1-6 μ l 10 \times TianFect转染试剂到DNA溶液中，制备成终体积为20 μ l的DNA/TianFect转染试剂复合物。（稀释后的TianFect转染试剂现配现用，不宜保存）

优化实验操作步骤

以24孔板培养贴壁细胞为例，如使用其它培养板，应根据转染规模调整转染试剂用量。（悬浮细胞也可以应用此说明书进行转染优化实验，但依据细胞数量的多少，可能需要更高的DNA浓度。）

DAY1----转染实验准备

1. 转染前一天，取适当数量的细胞铺板在含血清培养基的24孔板中，以使细胞密度在转染当天达到70%-90%。对于大多数细胞株来说，在500 μ l的含血清培养基中铺板 $0.75\sim 8.0\times 10^5$ 细胞量即可满足实验要求。
2. 在37 $^{\circ}$ C，5% CO₂培养箱中培养细胞过夜。

DAY2----转染实验

1. 转染实验开始前请将转染试剂放置至室温，轻弹混匀。
2. 溶解DNA溶液至室温，轻弹混匀。

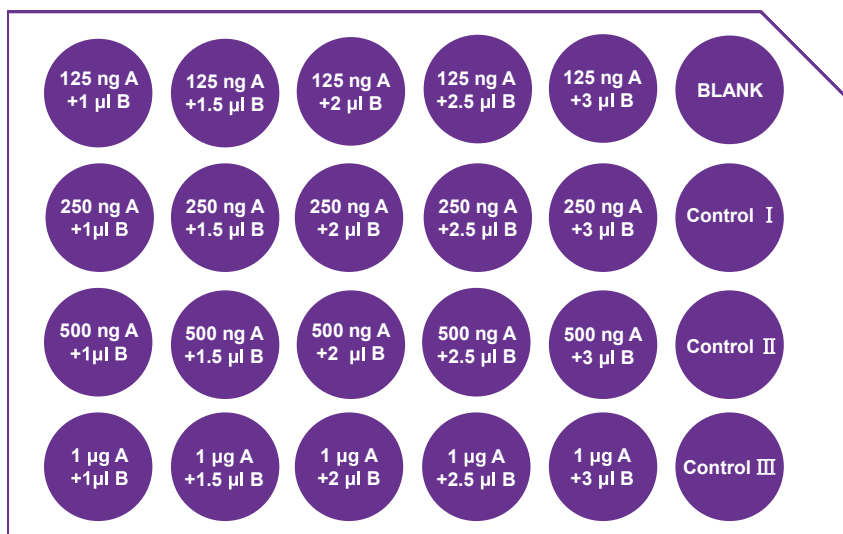
3. 制备DNA/TianFect转染复合物

① 在无菌的U或V型底离心管中，以300 μ l平衡至室温的无血清培养基（推荐使用OptiMEM®）分别溶解0.75, 1.5, 3和6 μ g DNA，分别制备终浓度为2.5、5、10和20 μ g/ml的DNA溶液，并将4个不同浓度的DNA溶液分别分装至5个离心管中，每管50 μ l（这个过程需要大约20支离心管）。

② 在上述4种不同DNA浓度的5个离心管中分别添加1、1.5、2、2.5和3 μ l的TianFect转染试剂，立即轻轻震荡或瞬时涡旋混匀2-3 s，室温静置孵育10 min。

③ 将上述配置的不同DNA/TianFect比例的转染混合液转移至细胞培养基中，24孔板每孔加入50 μ l的DNA/TianFect转染混合液（24孔板每孔细胞培养基500 μ l），轻轻混匀（每孔中DNA和TianFect转染试剂用量如图1所示）。

图1. 24孔板筛选TianFect转染试剂与DNA配比的优选法。



注：对于上述的4种浓度DNA溶液（2.5、5、10、20 μ g/ml），依次添加5种不同浓度的TianFect转染试剂（1、1.5、2、2.5、3 μ l），以此来确定转染效率最高（最高的基因表达量/最低的细胞毒性）的TianFect转染试剂与DNA配比。A，DNA； B，TianFect转染试剂； BLANK，细胞对照； Contro I，0.5 μ g A； Contro II，0.5 μ l B； Contro III，无血清培养基。

④ 在5%CO₂培养箱中37°C培养24-48 h，无须更换培养基（在4-5 h后更换培养基也不会降低转染活性）。

-
- ⑤ 对瞬时转染来说，在细胞中加入DNA/Tianfect转染混合液24-72 h后，检测报告基因活性。对稳定表达细胞系，在开始转染一天后将细胞按1:10或更高的稀释比例传代至新培养基中，再培养一天后加入筛选抗生素，进行稳定表达需要数天或数周。

推荐优化指标

1. 一般来说，随着TianFect转染试剂使用量的增加，基因的表达水平会随之升高，达到稳定表达水平后开始衰减。但基因的表达水平也会随着进入细胞的质粒数量的增加而增高，所以在稳定表达时基因的表达水平可能已经降低。
2. DNA的浓度直接影响转染实验的细胞毒性，不同细胞类型有不同DNA最佳转染浓度。如果出现细胞毒性，则应降低DNA浓度或直接减少DNA/TianFect转染试剂的使用量。

对转染效果评价的建议

评估一种转染试剂的转染效果，必须考虑一个转入基因过表达后引起细胞毒性的可能性。因此在优化转染效率时必须观察细胞毒性变化，细胞形态学的改变是细胞毒性的主要检测指标之一。

1. 观测与转染毒性相关的细胞形态学变化

① 对照组细胞在转染后24-48 h内应该达到融合状态，并且没有或者仅有较小的形态学应激变化。三组对照细胞应同时评估该指标。

② 转染效果应当在可见细胞毒性和生长速率两方面进行评估。细胞边缘光滑度是可见细胞毒性的一个显著指标；另外，细胞间距如果与对照组细胞相比出现明显扩大，则说明细胞生长速率出现下降。

③ 注意开始导致细胞形态学变化的转染试剂的体积。

④ 若没有观察到细胞形态学变化，应当测定报告基因与转染试剂剂量之间的关系曲线。剂量响应曲线显示的形态应激改变通常比生化领域检测到的细胞毒性要早。

2. 降低细胞毒性

① 减少DNA/TianFect转染试剂复合物的添加量通常可以降低细胞毒性。以24孔板为例，可以添加12.5~25 μl 的复合物与50 μl 的复合物比较细胞毒性的大小。

② 由于DNA/TianFect转染试剂复合物中DNA的比例是引起细胞毒性的主要因素，建议降低复合物中DNA浓度。

③ 减少转染试剂复合物与细胞的作用时间。在添加转染复合物4-24 h后更换新鲜培养基。

3. 提高基因表达量

适当增加转染复合物的剂量或提高转染复合物中DNA浓度来提高基因的表达量。

浓缩国际权威精华， 铸就TIANGEN优秀品质！

TIANGEN为您提供国际化标准的生物学产品和服务

- PCR、RT-PCR系列
- 核酸DNA、RNA分离纯化系列
- DNA分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品