

## HighGene plus Transfection reagent 说明书

货号: RM09014P

规格: 1mL, 10mL

#### ◆ 产品描述

HighGene plus Transfection reagent 细胞转染试剂是一种新型的混合型高分子聚合物转染试剂。它可以与核酸（包括质粒、siRNA、寡聚核苷酸）相互作用形成一种复合物将核酸转运到真核细胞内，适用于大部分真核细胞的细胞转染。

#### ◆ 产品特点

1. 适用于多种细胞类型和培养板。
2. 高转染效率、批次稳定重复性好、操作简单。
3. 转染过程不受血清和抗生素的影响。

#### ◆ 保存条件

-20°C保存, 24 个月有效。

#### ◆ 操作说明

##### 1、贴壁细胞转染（以 293T 细胞为例）

(1) 第一天, 将 293T 细胞接种到 6 孔板中, 细胞密度控制在 70%-90%为宜; 注: 根据实验需求, 可以选择不同的细胞培养装置, 细胞接种数量和所需培养液体积详见附表 1

(2) 第二天, 先取 4μg 质粒加入到 200μL 无血清 DMEM 基础培养基离心管中, 吹打混合均匀, 然后加入 8μL HighGene plus 转染试剂, 吹打混合;

注: MEM、1640、F12 等基础培养基均可用于 HighGene plus 转染试剂的溶剂, 不同的细胞培养装置所需质粒的量和 HighGene plus 转染试剂剂量详见附表 2;

(3) 将 200 $\mu$ L 质粒/HighGene plus 转染试剂复合物均匀滴加到 6 孔细胞培养板孔中，轻轻晃动细胞培养板使其均匀分布；注：6 孔板中为完全培养基，轻轻晃动细胞培养板即可，切勿剧烈摇动细胞培养板，以免细胞脱落漂浮；

(4) 细胞转染 4-6h 后，半量更换新鲜完全培养基；注：半量换液时，吸弃一半原有完全培养基，补加一半新鲜完全培养基；

(5) 细胞转染 24-48h 后，即可使用适当方式进行检测，如 RT-PCR、Western、ELISA、报告基因等，或加入相应筛选药物（G418 或 Puromycin）可获得稳定细胞株。

## 2、悬浮细胞转染（以 HEK293F 细胞为例）

(1) 第一天，在 125mL 摇瓶中接种 30mL 密度为  $1 \times 10^6$  个/mL HEK293F 悬浮细胞；

(2) 第二天，先取 30 $\mu$ g 质粒加入到 3mL 无血清 DMEM 基础培养基离心管中，吹打混合均匀，然后加入 60 $\mu$ L HighGene plus 转染试剂，吹打混合均匀；

(3) 将 3mL 质粒/HighGene plus 转染试剂复合物均匀滴加到 30mL 体积 HEK293F 悬浮细胞的 125mL 摇瓶中，轻轻摇动摇瓶使其混合均匀；

(4) 细胞转染 3-5 天后，根据蛋白表达的情况（胞内表达或分泌表达），收集细胞或细胞培养上清，进行后续蛋白纯化操作。

## 3、siRNA 细胞转染（以 HeLa 细胞为例）

(1) 第一天，将 HeLa 细胞接种到 6 孔板中，细胞密度控制在 70%-90%为宜；

(2) 第二天，先取 100pmol siRNA 加入到 200 $\mu$ L 无血清 DMEM 基础培养基离心管中；吹打混合均匀，静置 5min，然后加入 5 $\mu$ L HighGene plus 转染试剂，吹打混合均匀，静置 15-20min；注：不同的细胞培养装置所需 siRNA 的量和 HighGene plus 转染试剂剂量详见附表 3；

(3) 将 200 $\mu$ L siRNA/ HighGene plus 转染试剂复合物均匀滴加到 6 孔细胞培养板孔中，轻轻

晃动细胞培养板使其均匀分布；注：6 孔板中为完全培养基，轻轻晃动细胞培养板即可，切勿剧烈摇动细胞培养板，以免细胞脱落漂浮；

(4) 细胞转染 4-6h 后，半量更换新鲜完全培养基；注：半量换液时，吸弃一半原有完全培养基，补加一半新鲜完全培养基；

(5) 细胞转染 24-48h 后，即可使用适当方式进行检测，如 RT-PCR、Western、ELISA、报告基因等。

#### 4、慢病毒包装及感染（以 A549 细胞为例）

(1) 第一天，将 293T 细胞接种到 10cm 培养皿中，细胞密度控制在 70%-90%为宜；

(2) 第二天，先分别取慢病毒包装质粒 pMD2G 4 $\mu$ g，慢病毒包装质粒 pSPAX2 3 $\mu$ g，表达质粒 6 $\mu$ g 加入到 1mL 体积无血清 DMEM 基础培养基离心管中，吹打混合均匀，然后加入 26 $\mu$ L HighGene plus 转染试剂，吹打混合均匀；

(3) 将 1mL 质粒/HighGene plus 转染试剂复合物均匀滴加到 10cm 培养皿中，轻轻晃动细胞培养皿使其均匀分布；

(4) 细胞转染 4-6h 后，半量更换新鲜完全培养基；

(5) 细胞转染 48h 后，常规离心收集细胞培养上清液，用 0.45 $\mu$ m 滤器过滤细胞上清液，200  $\mu$ L 分装后-80 $^{\circ}$ C冻存备用；

(6) 将待感染的 A549 接种到 6 孔板中，细胞密度控制在 70%-90%为宜；

(7) 细胞贴壁后，将 200 $\mu$ L 慢病毒液均匀滴加到 6 孔板中，轻轻晃动细胞培养板使其均匀分布；

(8) 慢病毒感染 18h 后，更换新鲜完全培养基；

(9) 慢病毒感染 48h 后，即可使用适当方式进行检测，如 RT-PCR、Western、ELISA、报告基因等，或加入相应筛选药物（G418 或 Puromycin）可获得稳定表达细胞株。

### 注意事项

1. 转染前细胞应处于良好的生长状态，以对数生长期为佳，推荐细胞传代后 12-24h 内、细胞密度为 70%-90% 时进行转染。
2. 使用高质量的质粒有利于获得较高的转染效率，推荐使用无内毒素质粒抽提试剂盒抽提质粒，A260/A280 比值为 1.8-2.0，质粒浓度在 300ng/ $\mu$ L 以上。
3. 在配制细胞转染试剂与质粒复合物时，需使用无血清、无抗生素的基础培养基作为溶剂，细胞培养孔中的完全培养基不影响细胞转染效率；在细胞转染实验中，根据细胞转染效率可适当调整质粒与转染试剂的用量比例，一般质粒的量 ( $\mu$ g) 与 HighGene plus 转染试剂剂量 ( $\mu$ L) 比例在 1:1-1:2 之间；对于毒性比较敏感的细胞，建议转染 4-6h 后，半量更换新鲜完全培养基；转染试剂如遇沉淀，轻轻摇动管身，至沉淀溶解即可使用。
4. 建议转染试剂复合物制备后室温静置 20-30 min，再进行细胞转染。
5. 本产品仅限用于科学研究，不得用于临床诊断和治疗。

附表 1 常用细胞培养装置转染前一天细胞接种的推荐数量和培养体积

细胞培养装置	接种细胞数量	细胞培养液体积
96 孔板	$(1-3) \times 10^4$	0.1-0.2mL
24 孔板	$(1-3) \times 10^5$	0.5-1mL
12 孔板	$(2-4) \times 10^5$	1-2mL
6 孔板	$(3-5) \times 10^5$	2-3mL
60mm 培养皿	$(5-10) \times 10^5$	3-5mL
100mm 培养皿	$(1-3) \times 10^6$	8-10mL
125ml 摇瓶	$(1.5-2.5) \times 10^7$	30-35mL
500ml 摇瓶	$(6-10) \times 10^7$	120-140mL
1000ml 摇瓶	$(1.2-2) \times 10^8$	240-280mL

**附表 2 常用细胞培养装置细胞转染时, 各组分推荐使用剂量 (质粒细胞转染)**

细胞培养装置	质粒 ( $\mu\text{g}$ )	HighGene 转染试剂 ( $\mu\text{L}$ )	基础培养基 ( $\mu\text{L}$ )
96 孔板	0.2	0.4	10
24 孔板	1	2	50
12 孔板	2	4	100
6 孔板	2-4	4-8	200
60mm 培养皿	3-5	6-10	400
100mm 培养皿	5-10	10-20	1000
125mL 摇瓶	30-35	60-70	3000
500mL 摇瓶	120-140	240-280	12000
1000mL 摇瓶	240-280	480-560	24000

**附表 3 常用细胞培养装置细胞转染时, 各组分推荐使用剂量 (siRNA 细胞转染)**

细胞培养装置	siRNA (pmol)	HighGene 转染试剂 ( $\mu\text{L}$ )	基础培养基 ( $\mu\text{L}$ )
96 孔板	4	0.2	10
24 孔板	20	1	50
12 孔板	40	2	100
6 孔板	100	5	200
60mm 培养皿	200	10	400
100mm 培养皿	600	30	1000