

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 μ 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 1×10^6 个/mL HEK293F 悬浮细胞；

(2) 第二天，先取 30 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ g，慢病毒包装质粒 pSPAX2 3 μ g，表达质粒 6 μ 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 μ 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 μ m 滤器过滤细胞上清液，200 μ 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 μ 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/ μ 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 (μ g) 与 HighGene plus 转染试剂剂量(μ 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、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 (μg)	HighGene 转染试剂 (μL)	基础培养基 (μL)
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 (μL)	基础培养基 (μL)
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