



## Gencefe 转染试剂操作手册

### 1. 产品规格

名称	<b>Gencefe Super Trans</b>	规格	1.5mL
名称	<b>Gencefe TransExp</b>	规格	1.5mL

### 2. 产品描述

**Gencefe**有两款转染试剂，一款是通用型试剂可以转染DNA质粒和RNA的。另一款是专门转染RNA的。两款试剂都是纳米粒子材料。与其它转染试剂相比，**Gencefe**转染试剂具有毒性低、稳定性好、转染简单易行、重复性好等优点。

### 3. 应用范围

**Gencefe** 转染试剂适应于众多原代培养细胞和转化细胞株的转染，瞬时转染和稳定转染，可用于多种贴壁细胞以及悬浮细胞系，特别适用于各种常规细胞如293, 293T, COS7, A549, heLa 等细胞，均能得到较高的转染效率，且重复性好。

### 4. Gencefe TransExp 是通用型转染试剂，转染 DNA 质粒实验步骤如下：

#### DNA 转染流程

下列步骤适以24孔板为例，所有试剂用量和体积均是按孔计算。

1. 贴壁细胞：转染前一天每孔 $0.5-2.0 \times 10^5$ 个细胞接种于500  $\mu$ L 含抗生素的培养基中，转染时细胞长至50%融合最佳。
2. 转染复合物的制备
  - A. 将 **Gencefe TransExp** 转染试剂放置于室温中，使用前轻轻混匀；
  - B. 在无菌管中加入50ul无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加2ul转染试剂，用移液器轻轻混匀，室温静置5 min
  - C. 在另一无菌管中加入50ul无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加0.5ug DNA 质粒，用移液器轻轻混匀，室温静置5min；
  - D. 将 **Gencefe TransExp** 培养基混合物滴加至 DNA 质粒培养基混合物中，用移液器轻轻混匀，室温静置15~20 min后，立即转染。
3. 在每孔细胞中加入100  $\mu$ L 转染复合物，轻轻摇匀。
4. 转染6-8小时后可更换完全培养基。
5. 37℃培养24-72小时可检测 mRNA表达，48-96 小时检测蛋白表达。

## 5. Gencefe Super Trans 是 RNA 专用型转染试剂，转染 siRNA 实验步骤如下：

### siRNA 转染流程

下列步骤以 24 孔板为例，所有试剂用量和体积均是按每孔计算。

1. 贴壁细胞：转染前一日，每孔  $0.5-2.0 \times 10^5$  个细胞接种于 500  $\mu\text{L}$  含抗生素的培养基中，转染时细胞长至 60%~80% 融合最佳。
2. 转染复合物的制备
  - A 将 **Gencefe Super Trans** 转染试剂放置于室温中，使用前轻轻混匀；
  - B 在无菌管中加入 50  $\mu\text{L}$  无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加 2 $\mu\text{L}$  转染试剂，用移液器轻轻混匀，室温静置 5 min；
  - C 在另一无菌管中加入 50  $\mu\text{L}$  无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加 2 $\mu\text{L}$  siRNA，用移液器轻轻混匀，室温静置 5 min；
  - D 将 **Gencefe Super Trans** 培养基混合物滴加至 siRNA 培养基混合物中，用移液器轻轻混匀，室温静置 15~20 min 后，立即转染。

注：siRNA 一般推荐 20 $\mu\text{M}$  浓度保存，2 $\mu\text{L}$  总量是 40 $\mu\text{mol}$ 。
3. 在每孔细胞中加入 100 $\mu\text{L}$  转染复合物，轻轻摇匀。
4. 转染 6-8 小时后可更换成完全培养基。
5. 37 $^{\circ}\text{C}$  培养 24-72 小时检测 mRNA 表达，48-96 小时检测蛋白表达。

培养板	培养孔面积	接种培养液 ①	稀释用 Opti-MEM	siRNA 转染		DNA 转染	
				siRNA	转染试剂	DNA	转染试剂
96 孔板	0.3 $\text{cm}^2$	100 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 10 $\mu\text{L}$	20 pmol	1 $\mu\text{L}$	0.2 $\mu\text{g}$	0.8 $\mu\text{L}$
24 孔板	2.0 $\text{cm}^2$	500 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 50 $\mu\text{L}$	40 pmol	2 $\mu\text{L}$	0.5 $\mu\text{g}$	2 $\mu\text{L}$
12 孔板	4.0 $\text{cm}^2$	1 $\text{mL}$	2 $\times$ 100 $\mu\text{L}$	80 pmol	4 $\mu\text{L}$	1.5 $\mu\text{g}$	4 $\mu\text{L}$
6 孔板	10.0 $\text{cm}^2$	2 $\text{mL}$	2 $\times$ 200 $\mu\text{L}$	150 pmol	7.5 $\mu\text{L}$	2.5 $\mu\text{g}$	7.5 $\mu\text{L}$
60mm	20.0 $\text{cm}^2$	5 $\text{mL}$	2 $\times$ 0.5 $\text{mL}$	300 pmol	15 $\mu\text{L}$	6 $\mu\text{g}$	15 $\mu\text{L}$
10cm	60.0 $\text{cm}^2$	15 $\text{mL}$	2 $\times$ 1 $\text{mL}$	600 pmol	30 $\mu\text{L}$	12 $\mu\text{g}$	30 $\mu\text{L}$

## 6. 转染效率低影响因素

影响因素	解决方法
质粒	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 质粒的浓度太低—建议使用适宜的质粒浓度</li> <li>2. 质粒的纯度—建议使用高质量的质粒（OD<sub>260/280</sub>&gt;1.8）</li> <li>3. 应使用不含内毒素的质粒</li> </ol>

细胞生长状态	建议保证细胞形态和密度是最佳的
复合比例	优化转染试剂/DNA 的复合比例，在推荐的最佳复合比例附近，实验不同的比例，本产品在大多数细胞中的最适用量比不超过 5/1
培养时间	如使用敏感的细胞株，建议减少复合物与细胞的作用时间

## 7. 产品储存

**Gencefe** 转染试剂可在室温下运输，到货后 4°C 可保存 2 年，本产品已滤菌，使用前轻轻摇匀。

冬季寒冷，如果出现结冻的现象，要将本产品恢复至室温后使用。

## 8. 注意本转染试剂不能用于人体实验。