

OriFect Transfection Reagent

(转染试剂)

产品信息

| 货号 | 名称 | 规格 |
|--------------|-------------------------------------|--------|
| CC101-0.5 ml | OriFect Transfection Reagent (转染试剂) | 0.5 ml |
| CC101-1 ml | OriFect Transfection Reagent (转染试剂) | 1 ml |
| CC101-1.5 ml | OriFect Transfection Reagent (转染试剂) | 1.5 ml |

产品简介

OriFect Transfection Reagent 是一种高效的阳离子聚合物转染试剂。聚合物分支中带正电荷的基团可以与带负电荷的核酸相互作用，形成稳定的 OriFect-核酸复合物，与细胞表面结合并通过非特异性内吞作用进入细胞。OriFect 转染试剂与脂质体转染试剂相比具有以下优势：(1) 达到相同转染效率时细胞毒性更低；(2) 转染前无需更换培养基；(3) 转染过程中无需使用 Opti-MEM 等特殊培养基，降低了实验成本；(4) 转染操作简单，重复性好。

储存条件

保存于 4°C，不可冷冻

产品组成

| 名称 | OriFect Transfection Reagent | | |
|------------------|------------------------------|------------|--------------|
| | CC101-0.5 ml | CC101-1 ml | CC101-1.5 ml |
| OriFect | 0.5 ml | 1 ml | 1.5 ml |
| OriFect enhancer | 0.5 ml | 1 ml | 1.5 ml |

使用说明

1. 根据下表转染细胞（以 24 孔板转染 EGFP 表达质粒为例，其它孔板转染试剂用量可参考表 2）。

| | | | |
|---------|------------------|--|-----------------------|
| 转染前 1 天 | 接种细胞 | 按 900 μ l/孔接种细胞，细胞密度控制在培养 16-24 h 后，即转染前细胞汇合度达 60%-80% (1) | |
| 转染当天 | 配制 OriFect-核酸复合物 | 无血清培养基 | 99 μ l |
| | | OriFect enhancer | 1 μ l |
| | | 质粒 DNA (2) | 1 μ g |
| | | 涡旋振荡/吹打，充分混匀 | |
| | | OriFect 转染试剂 | 1 μ l (优化时可选多个体积) |
| | 转染 | 涡旋振荡/吹打，充分混匀，室温孵育 15 min | |
| 转染后 | 观察并分析转染细胞 | 直接滴加 OriFect-核酸复合物到前一天接种的细胞中 | |
| | | 6-8 h 后观察转染细胞状态以决定是否更换培养基以去除转染复合物 (3) | |
| | | 转染后 1-3 天，分析转染效率 (4) | |

OriNote:

(1) OriFect-核酸复合物依靠细胞内吞作用进入细胞，良好的细胞状态是高效转染的必要保证，确保转染前细胞形态良好，细胞汇合度在 80% 以下。

(2) OriFect 可广泛用于转染包括质粒 DNA，siRNA，microRNA 等各类型核酸分子，操作方法步骤与转染质粒 DNA 方法相同，但不同类型核酸分子的 OriFect/核酸比例需根据具体实验情况优化。

(3) 理论上讲，转染复合物与细胞共孵育时间越长，被转染细胞则越多，但不同细胞对转染试剂的耐

受程度不同，需根据具体细胞确定转染时间及是否需要更换培养基以去除转染试剂带来的细胞毒性。

(4) 最佳孵育时间，即转染后外源基因表达的高值出现时间，取决于细胞类型、启动子强度和表达产物特性，必须根据具体实验确定。

2. 使用 OriFect 转染试剂对贴壁细胞和悬浮细胞的转染用量

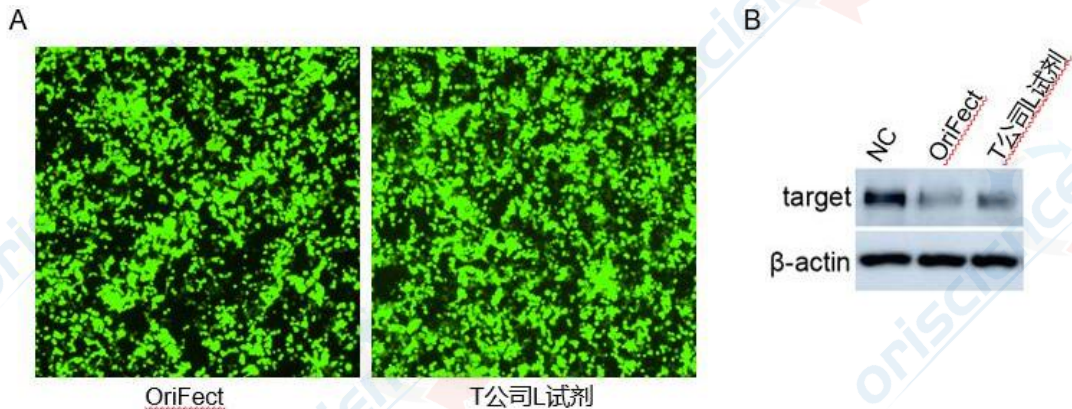
| 细胞培养板 | 细胞生长底面积 (cm ² /孔) | 细胞培养液体积 (mL) | 转染前一天接种贴壁 (或悬浮) 细胞数 (1) | 稀释用的无血清培养基体积 (μl) | OriFect enhancer 的体积 (μl) (2) | DNA 含量 (μg) | OriFect 转染试剂的体积 (μl) 范围 |
|--------|------------------------------|--------------|---|-------------------|-------------------------------|-------------|-------------------------|
| 96 孔板 | 0.3 | 0.2 | 1.0-1.5×10 ⁴ (2.0×10 ⁴) | 20.0 | 0.2 | 0.2 | 0.2-0.6 |
| 48 孔板 | 0.7 | 0.5 | 2.0-4.0×10 ⁴ (5.0×10 ⁵) | 50.0 | 0.5 | 0.5 | 0.3-2.0 |
| 24 孔板 | 2.0 | 1.0 | 6.0-8.0×10 ⁴ (1.0×10 ⁵) | 100.0 | 1.0 | 1.0 | 0.5-4.0 |
| 12 孔板 | 4.0 | 2.0 | 1.2-1.6×10 ⁵ (2.0×10 ⁵) | 200.0 | 2.0 | 2.0 | 1.0-6.0 |
| 6 孔板 | 9.5 | 4.0 | 2.4-3.2×10 ⁵ (4.0×10 ⁵) | 400.0 | 4.0 | 4.0 | 2.0-8.0 |
| 60mm 皿 | 20.0 | 6.0 | 6.0-8.0×10 ⁵ (1.0×10 ⁶) | 600.0 | 6.0 | 6.0 | 4.0-16.0 |

OriNote:

(1) 转染前一天接种贴壁 (或悬浮) 细胞数: 括号内的值为悬浮细胞数。

(2) OriFect enhancer 的体积应为稀释用的无血清培养基体积的 1/100。

数据展示



图A. OriFect 与 T 公司 L 试剂用 EGFP 表达质粒分别转染 293T。

图B. OriFect 与 T 公司 L 试剂分别转染 siRNA 的 Western-blot 结果。

转染流程图



注意事项

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。

常见问题及解决方法

| 问题 | 分析 | 解决方法 |
|----------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 转染效率偏低 | 细胞本身状态不佳 | 使用适度传代且为对数生长期的细胞 |
| | OriFect 浓度太高，造成细胞毒性 | 降低 OriFect 的用量 |
| | OriFect 和 DNA 的比例未优化 | 预实验，确定 OriFect 和 DNA 的比例 |
| | 转染体系不对 | 设立阳性对照，如转染 GFP 基因，检验转染体系 |
| | DNA 质量低，有降解或含有内毒素 | 使用纯化后且 OD260/280 \geq 1.8 的 DNA |
| | OriFect 和 OriFect enhancer 未稀释 | 根据使用说明对转染试剂稀释后加入 |
| | 转染复合物中含有血清 | 使用无血清培养基 |
| | 支原体污染 | 定期检查细胞中是否有支原体污染 |
| 转染后细胞状态差 | 转染试剂用量偏多，造成细胞毒性 | 减少转染试剂用量，更换为正常含血清培养基 |
| | 转染时细胞汇合度偏低 | 使用对数生长期的细胞，转染时细胞汇合度达 60%-80% |
| | DNA 未纯化，含有内毒素 | 使用纯化后且 OD260/280 \geq 1.8 的 DNA |
| | 细胞株对转染试剂较敏感或转染后培养时间过长 | 加入转染复合物 6-8 h 后，及时更换培养基 |
| | 基因的产物毒性 | 验证基因产物是否有毒 |
| | 转染复合物加入培养基后分布不均，局部转染复合物浓度过高，细胞毒性偏高 | 加入转染复合物后，轻晃匀或轻用手指敲孔板一侧使其分布均匀 |
| | 细胞状态不佳。传代次数太少，细胞未恢复正常状态；或传代次数过多，细胞老化 | 使用适度传代的细胞，保证使用的细胞状态正常；减少代次差异对实验结果的影响 |

Oriscience Biotechnology Co., Ltd.

www.oriscience.com

Tel: 400-158-2128

Emails: order@oriscience.com

technical_support@oriscience.com

