

Chemifect

(质粒 DNA 转染试剂)

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
FR-01	Chemifect	1 mL	4 °C 2 年
	说明书	1 份	

一、产品介绍。

Chemifect 真核细胞转染试剂是一款新型非脂质体类转染试剂，主要用于质粒 DNA 的转染，在多种细胞中都表现出很高的转染效率和超低的细胞毒性，目前广泛应用于蛋白表达、文库筛选和病毒包装等实验。

二、运输与存储。

本产品常温运输，4 °C 保存，有效期 2 年。

三、特点与优势。

1. 转染试剂浓度高，用量为市售常规试剂用量的一半。
2. 转染效率高，生物稳定性高，适用范围广泛。
3. 细胞毒性低。Chemifect 在多种类型细胞的转染实验中没有细胞毒性，或具有超低的细胞毒性。
4. 操作方便，本产品在有无抗生素和血清的培养液中均可使用，转染前细胞不用换液。

四、使用说明。

1. 本操作步骤以 6 孔板为例，其他培养体系根据下表中推荐的质粒 DNA 与 Chemifect 用量与比例进行实验。
2. 细胞培养。胰酶消化法收集细胞，用新鲜培养液重悬并计数，根据细胞生长速度和体积大小，接种一定量的细胞到 6 孔板中培养，24 小时后细胞密度达到 50%-70%。
3. 转染复合体制备。吸取 200 μ L OPTI-MEM 培养液 (Gibco)，加入灭菌的 EP 管 (1.5 mL) 中，再依次加入 2 μ g 质粒 (质粒体积依据质粒浓度计算) 和 3 μ L Chemifect 转染试剂，混合 10-20 次，室温静置 15-30 min (15 min 即可，30 min 效果会更好)，形成转染复合体。
4. 细胞转染。吸取上一步中制备的转染复合体溶液 (**转染复合体已经形成，切勿再次吹打混匀，以免破坏转染复合体，降低转染效率**)，滴加入 6 孔板的培养液中，轻轻摇晃，混匀，转入细胞培养箱中继续培养。

- 转染后 12-24 小时后换液，若无细胞毒性，也可以不换液。
- 转染 48 h 后检测外源蛋白表达情况（如荧光显微镜下检测 GFP 荧光）。

表 1. DNA、Chemifect 与 OPTI-MEM 用量表

培养板	DNA量 (μg)	Chemifect 用量 (μL)	OPTI-MEM使用体积 (μL)
24-well plate	0.5	0.75	100
6-well plate	2	3	200
35 mm plate	2	3	200
60 mm plate	4	6	400

五、适用细胞类型。

本产品可在 CHO、Sf9、HEK293、293T、293F、Hela、BHK21、HCT11、COS-7、NIH3T3、MEF、U2OS、HepG2 和 MCF-7 等细胞中能进行质粒的高效转染。

六、注意事项。

- 本产品严禁冻存，否则失效。
- 转染过程中 DNA 与转染试剂的比例 (μg:μL) 一般在 1:1~1:3，其中，1:1.5 的比例在大部分细胞中能取得最佳转染效果。
- 转染过程中，Chemifect 与质粒混合后，需要室温静置 30 分钟，以便充分形成转染复合体，时间过短，则转染复合体形成不完全，影响转染效率。
- 转染实验一般在细胞接种 24 小时后进行，保证细胞进入对数生长期，细胞生长状态良好。
- Chemifect 对大部分细胞没有毒性，如果不考虑转染试剂对实验的影响，转染后可以不换液。
- 细胞密度对转染效率也具有很大的影响，请选择汇合度为 50-70% 的对数生长期细胞进行质粒 DNA 转染实验，可以取得较高的转染效率。细胞密度过高或过低都会降低转染效率。
- 质粒 DNA 的质量直接影响转染效率。建议选择高纯度的质粒 DNA (OD_{260/280} 在 1.7~1.9 之间) 进行细胞转染实验，质粒 DNA 浓度建议在 0.2 μg/μl 以上。
- 悬浮细胞转染质粒 DNA 时，请转染 24 h 后换液，使转染复合体能够完全被细胞吞噬。
- 转染 12 h 后，质粒携带的外源基因（如 GFP）开始表达，24 h 后表达 50-70%，48 h 后表达量达到顶峰。更换新鲜的培养液可以刺激外源基因的表达。因此，检测外源基因表达水平时，请在转染后 48 h 观察，或收集细胞检测，可以得到较好的实验结果。

七、转染效果检测。

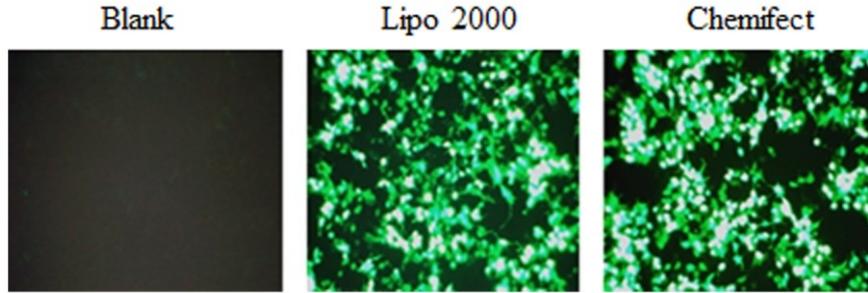


图 1. 绿色荧光蛋白 (GFP) 表达效果检测 (100×)

HEK293 细胞接种于 6 孔板, 24 h 后利用 Chemifect 和 Lipofectamine 2000 (Lipo 2000) 转染绿色荧光蛋白 (GFP) 质粒, 48 h 后荧光显微镜下检测 GFP, 并拍照。

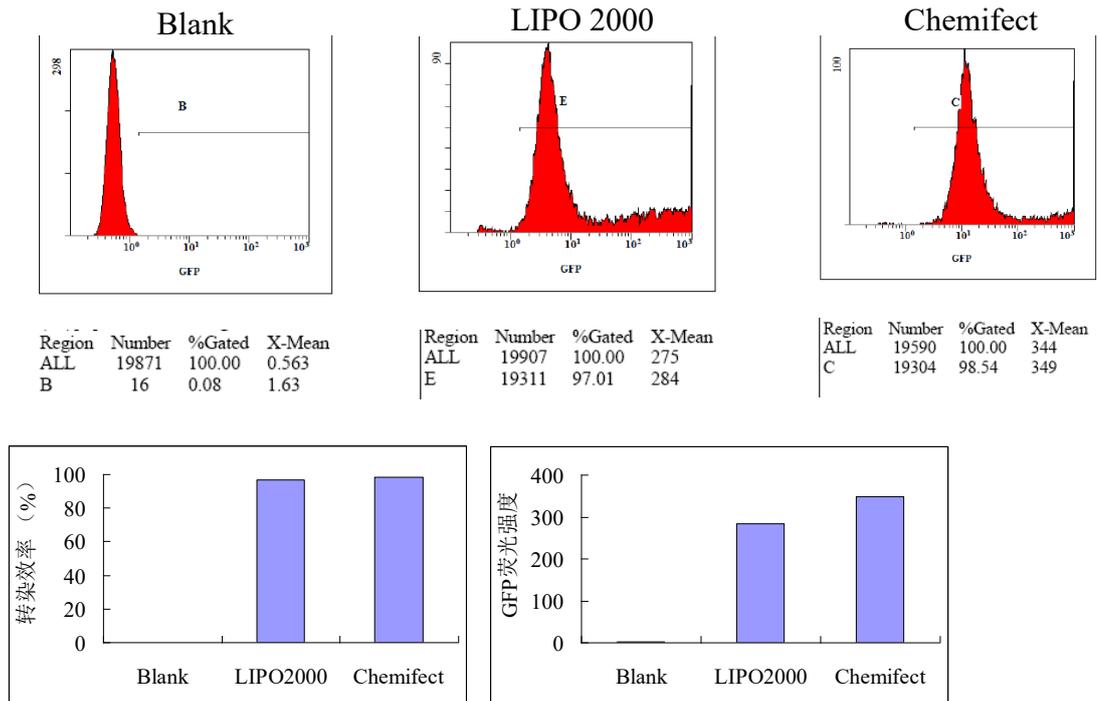


图 2. 流式细胞仪检测绿色荧光蛋白 (GFP) 表达效果

HEK293 细胞接种于 6 孔板, 24 小时后利用 Chemifect 和 lipo2000 转染 GFP 质粒, 转染 48 小时后胰酶消化法收集细胞, 流式细胞仪检测 GFP 阳性细胞率和 GFP 几何平均荧光强度。

八、常见问题与分析

问题	可能原因	解决方案
转染效率低	细胞株本身转染效率较低。	提高质粒和 Chemifect 的用量。
	细胞没有处于对数生长期。	细胞传代后 24-36 h 内转染。
	细胞密度过高与过低。	调整细胞接种数量，转染时细胞密度达到 50-70%。
	质粒纯度和浓度偏低。	请使用去除蛋白污染的质粒，OD260/280 在 1.7-1.9 之间，浓度为 0.2 μg/μl 以上。
	质粒用量较少。	请参考说明书中的质粒 DNA 用量，每孔细胞转染的质粒 DNA 用量不可少于最低用量。
	目的基因未完全表达。	转染 24 h 后外源基因开始表达，48 h 后达到高峰，选取转染后 48 h 检测目的基因表达，效果较好。
	转染复合物形成时间偏短。	质粒 DNA 与 Chemifect 剧烈混合后，室温静置 30 min，保证转染复合物充分形成， 且加入细胞培养液前禁止再混匀，以免破坏转染复合物。
	质粒 DNA 与 Chemifect 未按规定比例混合。	请按照质粒 DNA: Chemifect = 1μg: 1.5 μl 的比例混合，Chemifect 的用量减少，则转染效率降低。
细胞毒性大	特定细胞株对 Chemifect 敏感。	减少 Chemifect 用量，转染后 6 h 换液。
	细胞密度偏低。	增加接种细胞密度，转染时细胞密度达到 50% 以上。
	质粒纯度较低。	使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒，增加质粒纯度。
	细胞状态较差。	提高细胞状态，或更换细胞。
	Chemifect 用量较大。	请按表格规定用量使用 Chemifect。