

Polyfect-V 转染试剂使用说明

产品简介:

Polyfect-V 转染试剂是根据 HEK293V 细胞特点特别优化, 专用于病毒包装的转染试剂。具有细胞毒性低, 操作简便, 血清和抗生素对转染无影响, 质粒和转染试剂用量少等显著优点。

规格:

| 货号 | 体积 | 价格 |
|-----------|-------|-------|
| P2010-0.5 | 0.5ml | ¥900 |
| P2010-1 | 1ml | ¥1800 |

保存:

本品在 4℃ 可保存 2 个月, 如需长期保存可 -20℃ 冻存。

转染前注意事项:

- 1、转染密度以 70%-90% 比较合适。适当提高转染密度可以提高病毒产量, 但细胞密度超过 90% 后细胞转染效率显著下降, 病毒包装滴度也会显著降低。
- 2、如果长时间未使用转染试剂, 使用前需用漩涡振荡器混合均匀。
- 3、转染复合物形成后血清和抗生素对转染无影响, 但形成转染复合物过程中不能有血清和抗生素。
- 4、不同细胞培养装置的转染试剂和质粒用量见下表。表中的用量根据 HEK293V 细胞优化。如果用 Polyfect-V 转染其他细胞, 转染试剂 (μl) 和 DNA (μg) 比值可以在 1.6:1 到 3:1 之间优化, 对难转染细胞, 转染试剂用量可以加倍。

| 细胞培养装置 | DNA 用量 (μg) | 稀释 DNA 的稀释液体积 (μl) | Polyfect-V 转染试剂体积 (μl) | 稀释 Polyfect-V 的稀释液体积 (μl) | 细胞培养液总体积 (ml) |
|--------|-------------|--------------------|------------------------|---------------------------|---------------|
| 96 孔板 | 0.2 | 25 | 0.4 | 25 | 0.1 |
| 24 孔板 | 0.8 | 50 | 1.6 | 50 | 0.5 |
| 12 孔板 | 1.6 | 75 | 3.2 | 75 | 1 |
| 6 孔板 | 4.0 | 150 | 8.0 | 150 | 2 |
| 6cm 皿 | 6.0 | 250 | 12.0 | 250 | 5 |
| 10cm 皿 | 10 | 500 | 20 | 500 | 10 |
| 14cm 皿 | 20 | 1000 | 40 | 1000 | 20 |

操作步骤:

由于 Polyfect-V 毒性低,可以在制备的 HEK293V 细胞悬液中直接进行快速转染。与常规转染方法相比,快速转染法操作简便,铺板和转染一步完成,在大批量包装病毒时可节省大量时间和精力,提高重复性,减少病毒不同批次间的包装效率差异。下面以 10cm 平皿为例说明快速转染法和常规转染法。

快速转染法

- 1、 漩涡震荡混匀 Polyfect-V 转染试剂。
- 2、 准备 2 个离心管,按以下顺序分别制备质粒和转染试剂稀释液。

| 离心管 1 (质粒 DNA) | 离心管 2 (转染试剂) |
|-----------------------|----------------------------|
| 质粒 10 μ g | Polyfect-V 转染试剂 20 μ l |
| DMEM 无血清培养基 X μ l | DMEM 无血清培养基 480 μ l |
| 总体积 500 μ l | 总体积 500 μ l |
- 3、 充分混匀。
- 4、 将混匀的转染试剂稀释液(离心管 2)加入质粒 DNA 溶液(离心管 1)中,立刻吹打混匀。注意加入顺序非常重要。
- 5、 室温孵育转染混合液 15 分钟。
- 6、 在孵育转染混合液时,消化 HEK293V 细胞,用 293T 培养基制备成 0.6×10^6 /ml 细胞悬液。根据需要制备的病毒量,将细胞悬液放入 15ml 或 50ml 离心管备用。
- 7、 将每 1ml 转染混合液加入 10ml 细胞悬液,轻轻吹吸细胞混匀。
- 8、 将细胞悬液按 10ml/皿分入 10cm 培养皿,放入 37 $^{\circ}$ C 培养 24 小时。
- 9、 去除含有转染试剂的培养基,用 10ml 新鲜的细胞培养基换液。
- 10、 继续培养 24 小时进行细胞检测或其他操作。

常规转染法

- 1、 转染前 24 小时,将 293V 细胞以 $4-5 \times 10^6$ /10cm 平皿密度接种,加入 10ml 293V 培养基 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养。细胞转染前密度应达到 90%。
- 2、 漩涡震荡混匀 Polyfect-V 转染试剂。
- 3、 准备 2 个离心管,按以下顺序分别制备质粒和转染试剂稀释液。

| 离心管 1 (质粒 DNA) | 离心管 2 (转染试剂) |
|-----------------------|----------------------------|
| 质粒 10 μ g | Polyfect-V 转染试剂 20 μ l |
| DMEM 无血清培养基 X μ l | DMEM 无血清培养基 480 μ l |
| 总体积 500 μ l | 总体积 500 μ l |
- 4、 充分混匀。
- 5、 将转染试剂稀释液(离心管 2)加入质粒 DNA 溶液(离心管 1)中,立刻充分混匀。注意加入顺序非常重要。
- 6、 室温孵育转染混合液 15 分钟。
- 7、 将 1ml 转染混合液逐滴加入步骤 1 准备的细胞培养皿,前后晃动培养皿,充分混匀。
- 8、 37 $^{\circ}$ C 培养。
- 9、 4-6 小时后,用 10ml 新鲜的细胞培养基换液。
- 10、 继续培养 24-48 小时进行细胞检测或其他操作。