GP-transfect-Mate转染试剂 使用说明书

■ 产品介绍

GP-transfect-Mate是吉玛基因最新推出的一种高效能高分子聚合物转染试剂，应用于多种细胞的DNA核酸质粒也可部分用于siRNA、miRNA oligo的体外转染实验。鉴于该聚合物结构分布一致性高，具有能够快速、均一性携带RNA或DNA等核酸物质复合能力，故可实现良好的重复性、均一性、低毒性的转染效果。与其它转染试剂比较，GP-transfect-Mate转染效率高、细胞存活率高、毒性小。可广泛用于瞬时和相对稳定转染，有助于蛋白表达和基因功能的深入研究。

■ 保存条件

4~8°C保存，不可冷冻，有效期1年。

■ 操作流程（24孔板）

以24 孔板为例，若要检测基因沉默或者过表达效果，推荐最低RNA oligo终浓度为50nM（DNA为0.5~1.5 μg）；遵循以下操作方法可以高效地将RNA oligo或者DNA转染贴壁和悬浮培养的多种真核细胞。但是对某些特殊的细胞系和培养条件，或特殊应用等，也需要单独特别优化，请参考表 1、表2。

• 细胞铺板

转染时细胞密度：一般来说，当细胞密度达到60%～80%时进行转染可以取得较高的转染效率（参见表1）。然而，不同细胞的最适转染密度都不尽相同，因此在初次转染某种细胞时，可以通过预实验先确认该细胞最佳的转染密度。

• 转染复合物的制备

1. 将 GP-transfect-Mate转染试剂放置于室温中，使用前轻轻混匀；
2. 在1.5 mL无菌离心管中加入50 μL无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加适量的转染试剂（参见表2），用移液器轻轻混匀，室温静置5 min；
3. 同时在另一1.5 mL无菌离心管中加入50 μL无血清培养基或OPTI-MEM，并添加适量的RNA oligo/DNA（参见表2），用移液器轻轻混匀，室温静置5 min；
4. 将GP-transfect-Mate培养基混合物滴加至RNA oligo/DNA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：复合物尽量在60 min内使用，并且GP-transfect-Mate培养基混合物和RNA oligo/DNA培养基混合物的混合次序非常重要，切勿颠倒。

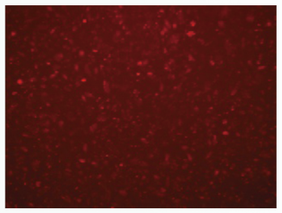
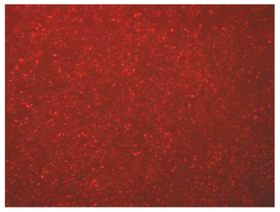
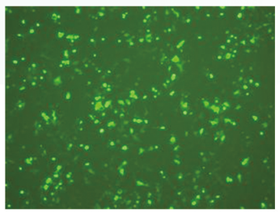
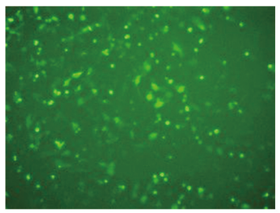
• 转染过程

1. 趁静置时，给 24 孔板换液，每孔换上 0.4 mL预热的新鲜培养基；
2. 将 100 μL转染混合物加入孔中，终体系为500 μL。加完后将板轻轻晃动以使复合物均匀分布；
3. 37℃静置培养细胞，4~6 h换成完全培养基。24~72 h检测mRNA表达，48~96 h检测蛋白表达。

■ 适用范围

293T，A549，Beas-2B，HeLa，ECA-109，Raw264.7，A375，CAFs，HCT116，HT29，LMH，NE-4C，MGC803，PC-3，PC-12，MCF-7，C6等细胞。

■ 案例分析

	CAFs	A375
RNA oligo		
	NE-4C	MGC803
DNA 质粒载体		

*本产品仅限于科研用途，而不适用于临床诊断、治疗等其他特殊用途。

GenePharma Co., Ltd
www.genepharma.com
股票代码：430601

上海吉玛制药技术有限公司
上海张江高科技园区哈雷路1011号
support@genepharma.com
021-51320195

苏州吉玛基因股份有限公司
苏州工业园区东平街199号
szsupport@genepharma.com
0512-86668828

■ 常见解答

转染效率偏低

- 转染时细胞密度不合适

多数情况下，当细胞密度达到60%～80%时转染可以取得较高的转染效率。然而细胞类型不同，最适的转染密度也不尽相同。建议优先通过预实验寻找较优化的转染密度，并在后续实验中保持这个密度。

- 细胞状态偏差

传代次数太少或者太多都将导致细胞对转染试剂敏感度的改变。因此，为了提高转染效率以及转染稳定性、降低细胞毒性，应尽量使用适度传代的细胞系，并在不同次实验时保持细胞传代次数的一致性。

- RNA oligo/DNA质量偏低

为实现高效率、低毒性的转染，应使用高质量的RNA oligo/DNA (高纯度、无菌、无内毒素)。

- GP-transfect-Mate与RNA oligo/DNA的比例不优化

通过预实验测试GP-transfect-Mate与RNA oligo/DNA的最佳比例。在后续的实验中选择转染效率高、细胞毒性低的比例进行转染。

- 转染试剂/RNA oligo/DNA复合物包装体系中包含血清

当包装反应体系中存在血清时，转染试剂/DNA复合物无法正常形成。

- GP-transfect-Mate与RNA oligo / DNA复合物直接加到了无血清培养基中

GP-transfect-Mate/RNA oligo / DNA复合物的包装反应需在无血清条件下进行，但之后应将复合物添加到可以含血清培养基中进行转染。多数情况下，在完全培养基中进行转染，并且转染后不更换培养基有助于获得更高的转染效率和更低的细胞毒性。

细胞毒性偏高

- 转染时细胞密度不合适

多数情况下，当细胞密度达到60%～80%时转染可以取得较高的转染效率。然而细胞类型不同，最适的转染密度也不尽相同。建议优先通过预实验寻找较优化的转染密度，并在后续实验中保持这个密度。

- 细胞状态偏差

传代次数太少或者太多都将导致细胞对转染试剂敏感度的改变。因此，为了提高转染效率以及转染稳定性、降低细胞毒性，应尽量使用适度传代的细胞系，并在不同次实验时保持细胞传代次数的一致性。

- GP-transfect-Mate/RNA oligo/DNA复合物直接加到了无血清培养基

GP-transfect-Mate/RNA oligo/DNA复合物的包装反应需在无血清条件下进行，但之后应将复合物添加到含血清培养基中进行转染。多数情况下，在完全培养基中进行转染，并且转染后不更换培养基有助于获得更高的转染效率和更低的细胞毒性。

- GP-transfect-Mate/RNA oligo/DNA复合物过量

转染试剂过量会导致较高的细胞毒性。尝试减少转染试剂或者GP-transfect-Mate的使用量，参见表2。

- GP-transfect-Mate/RNA oligo/DNA复合物加入培养基时分布不均匀

局部转染试剂/RNA oligo/DNA复合物浓度过高是导致细胞毒性偏高最常见的原因之一。当复合物添加到培养基之后，应平置培养皿，并前后、左右轻轻晃动。

■ 附录

表1：贴壁细胞或悬浮细胞接种数量、培养基体积

培养器皿	每孔表面积 (cm^2)	每孔培养基的体积（mL）	贴壁细胞转染前一天接种密度	悬浮细胞转染当天接种密度
96 孔板	0.3	0.1	5000 ± 2500	$2\sim5\times10^4$
24 孔板	2	0.5	25000 ± 10000	$1\sim2.5\times10^5$
12 孔板	4	1	50000 ± 20000	$2\sim5\times10^5$
6 孔板	10	2	150000 ± 50000	$0.4\sim1\times10^6$
60 mm	20	4	400000 ± 100000	$1\sim2.5\times10^6$
100 mm	60	10	1×10^6 ± 250000	$2\sim5\times10^6$

注：贴壁细胞培养密度取决于培养器皿的表面积，而悬浮细胞则由培养基的体积决定，确保转染时细胞密度在 60~80%。

表2：不同培养板转染DNA/RNA oligo的推荐转染条件

培养器皿	Growth Medium	Opti-MEM/ Serum-free Mediumfor complex	DNA转染		RNA转染	
			DNA/μg	转染试剂/μL	RNA /pmol	转染试剂/μL
96 孔板	100 μL	2×10 μL	0.2	0.4~1	20	0.5~1
24 孔板	500 μL	2×50 μL	0.6	1.2~3	40	1~3
12 孔板	1 mL	2×100 μL	1.5	3~6	80	3~5
6 孔板	2 mL	2×200 μL	3	6~12.5	150	5~8
60 mm	5 mL	2×500 μL	6~10	12~20	300	10~20
100 mm	10 mL	2×1 mL	15~30	30~60	500	25~35

注：GP-transfect-Mate转染试剂的用量在此范围内进行优化。