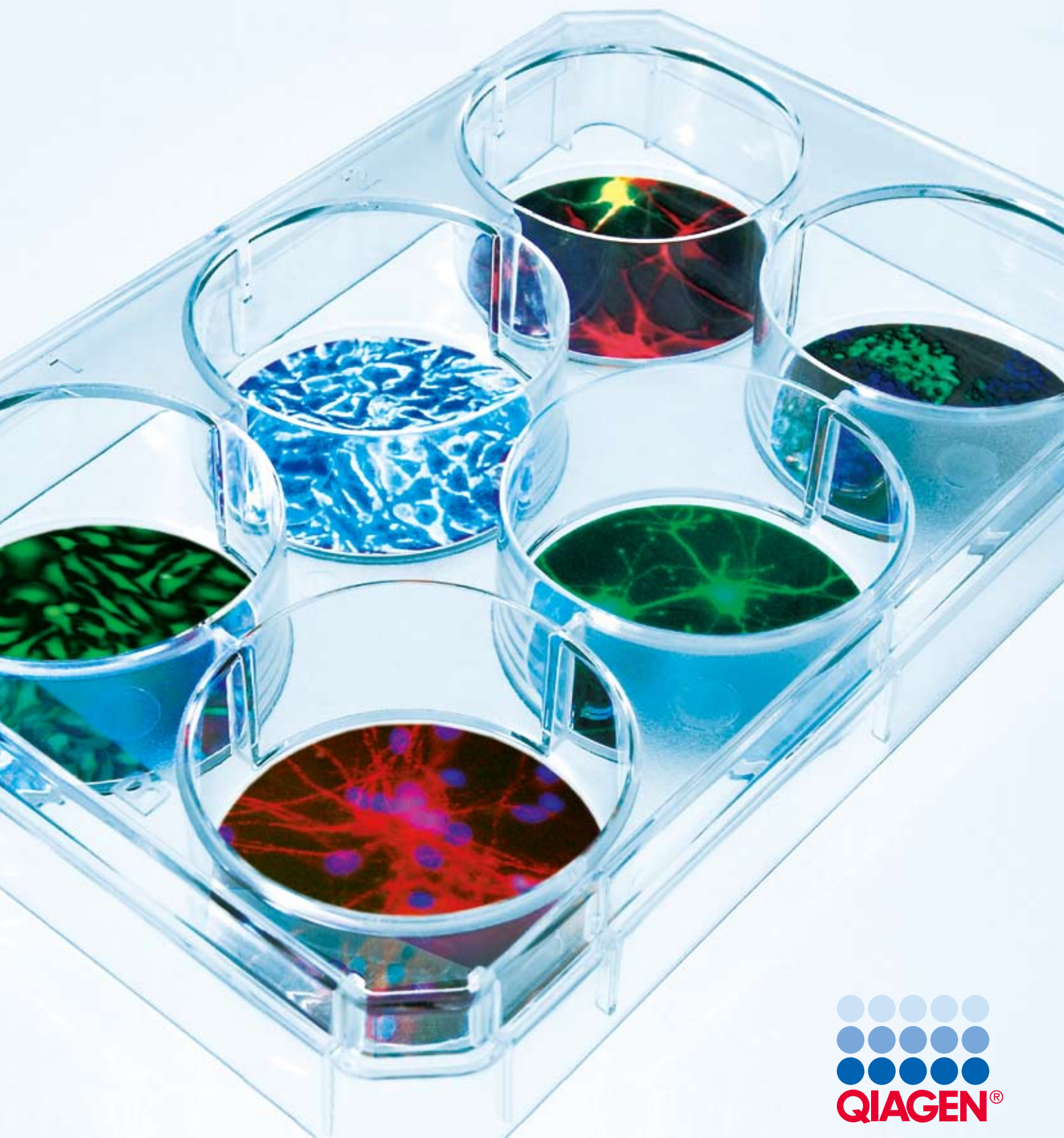


转染实验指南



Sample & Assay Technologies

QIAGEN 解决方案助您实现完美转染

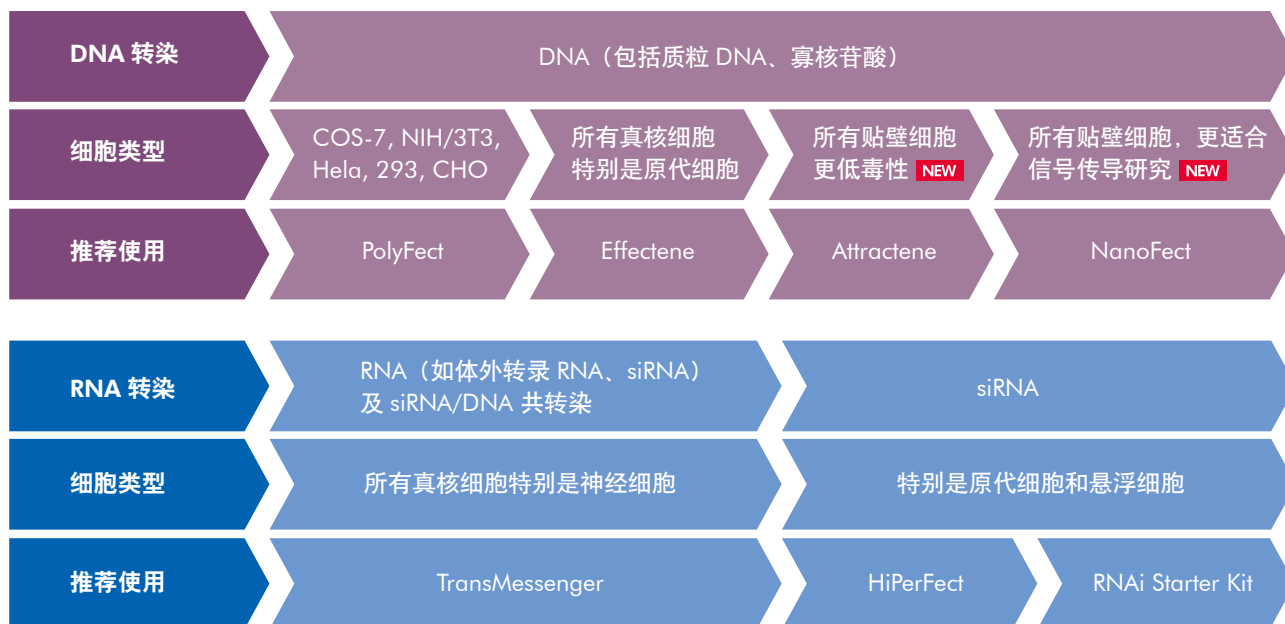
QIAGEN 提供一系列转染试剂用于 DNA、mRNA、siRNA 及共转染实验, 适合广泛的细胞类型, 包括敏感的原代细胞、难转染的神经细胞及悬浮细胞。根据手册中的选择指南您可以容易地找到最适合自己的转染方案, 并且手册正文还提供更详细的信息。

更多转染相关的资源, 如实验操作步骤、已经成功转染的细胞株及详细转染条件, 请查询: www.qiagen.com/TransFect 和 www.qiagen.com/TransfectionTools。

本手册的内容包括:

■ 转染试剂选择指南	1
■ PolyFect Transfection Reagent	2
■ Effectene Transfection Reagent	3
■ Attractene Transfection Reagent	4
■ NanoFect Transfection Reagent	5
■ HiPerFect Transfection Reagent	6
■ RNAi Human/Mouse Starter Kit	7
■ TransMessenger Transfection Reagent	8
■ 成功转染的细胞株 — Transfection Cell Database	9-10
■ 转染实验操作步骤 — Transfection Protocol Database	11
■ 转染实验疑难解答指南	12

转染试剂选择指南



试剂特点	优点	血清存在时转染	转染后更换培养液	快速转染一天完成	经内毒素检测	经检测无 RNase
PolyFect	为特定细胞株优化, 快速简单的操作	可以	不需要	可以	是	-
Effectene	能在原代细胞和敏感细胞中达到高效率转染	可以	不需要	可以	是	-
Attractene	创新阳离子脂质技术, 转染效率高, 毒性更低	可以	不需要	可以	-	-
NanoFect	创新纳米多聚物, 无脂质成份专用于对脂质、内毒素敏感的应用	可以	不需要	可以	是	-
TransMessenger	高效率共转染	可以	需要	可以	是	是
HiPerFect	专用于 siRNA 转染, 转染效率高, 毒性更抵	可以	不需要	可以	是	是
RNAi Human/Mouse Starter Kit	组合装更加方便 RNAi 实验的建立, 含 HiPerFect、阳性对照、荧光标记的阴性对照	可以	不需要	可以	是	是

备注: - 未测试; 对于少数敏感细胞, 可能需要转染后更换培养液。

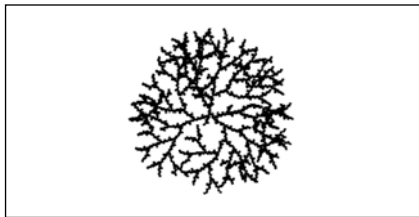


图 1 高度分枝的活化树状多聚物

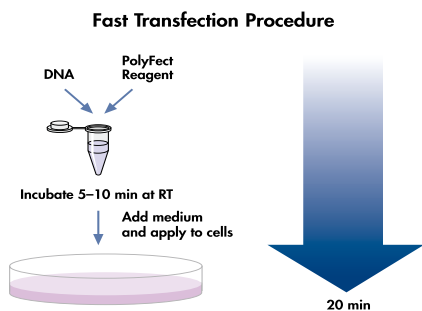


图 2 快速的转染流程

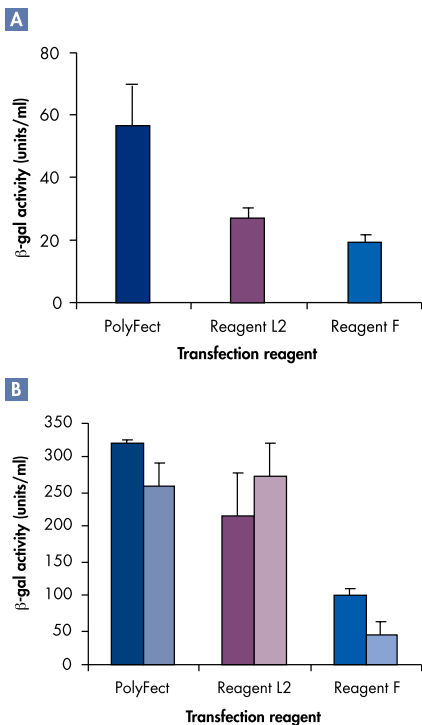


图 3 PolyFect 试剂效果优于其它试剂。A CHO 或 B 293 cells cultured in 6-well plates were transfected with a β -galactosidase reporter plasmid using PolyFect Reagent or Reagent L2 or Reagent F, according to the manufacturers' instructions. All transfections were performed in triplicate. Results of two independent experiments are shown for 293 cells.

PolyFect Transfection Reagent

快速简单的 DNA 转染，用于标准细胞株

- 节约时间 — 快速简单的操作流程，只需 20 分钟
- 高效转染，为下列细胞株特别优化 — COS-7, NIH/3T3, HeLa, 293, CHO
- 细胞存活率高 — 毒性低

PolyFect 试剂采用先进的活化树状多聚物（图 1），从多聚物中心向外辐射出带正电荷的氨基基团与 DNA 分子结合。

操作流程简单，节约时间

简单地将 PolyFect 试剂加入到 DNA 溶液中，混合后室温孵育 5-10 分钟，再将 PolyFect-DNA 复合物加入到细胞中。转染完成后无需更换培养液去除复合物，操作更简单（图 2）。

经优化的操作流程，转染效率高

为每一种细胞株（COS-7, NIH/3T3, HeLa, 293, CHO）提供特异性的操作流程，确保高效率、高重复性的转染（图 3）。

低毒性使得细胞存活率高

比起基于脂质体的试剂，PolyFect 的毒性更低（图 4），因此无需去除或稀释转染复合物。PolyFect 也可以在有血清存在的条件下转染，许多基于脂质体的试剂却不可以，因为血清的存在降低了脂质体试剂的效率。

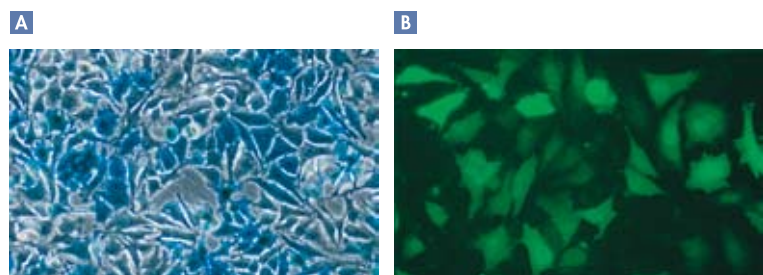


图 4 极低细胞毒性。HeLa cells were cotransfected in 6-well plates with β -galactosidase and green fluorescent protein reporter plasmids using PolyFect Reagent. Expression was visualized by A X-Gal staining or B fluorescence microscopy 2 days after transfection.

可以反向转染，非常适合高通量研究

先将 DNA 和转染试剂加入到培养孔中，待复合物形成后，再将细胞加入到培养孔中，见图 5。

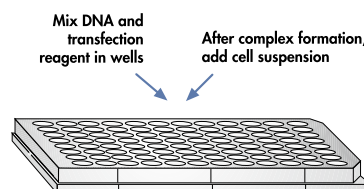


图 5 反向转染流程。

Effectene Transfection Reagent

使用原代细胞做 DNA 转染的最佳选择

- 用于原代细胞和敏感细胞的理想试剂 — 更温和、毒性更低
- 高效转染 — 可使用更少量的 DNA，可在血清存在时转染
- 操作流程简单

Effectene 试剂采用先进的非脂质体脂质技术，配合 DNA 浓缩增强子，可形成小颗粒转染复合物，容易被细胞吸收，只需使用少量 DNA 即可达到高效转染。

低毒性，使用低 DNA 浓度，原代细胞的理想之选

因其毒性低，非常适合敏感细胞如原代细胞的转染（图 1，2）。并且可使用少量 DNA，进一步降低系统毒性，因此对于大多数细胞转染后无需更换培养液。可在血清存在下转染。成功转染的细胞类型和实验细节可查询 www.qiagen.com/TransfectionTools。

操作流程简单

将 DNA 与浓缩增强子混合后，加入 Effectene 试剂形成复合物，向复合物中加入一定体积的培养液，然后加入细胞中（图 3）。

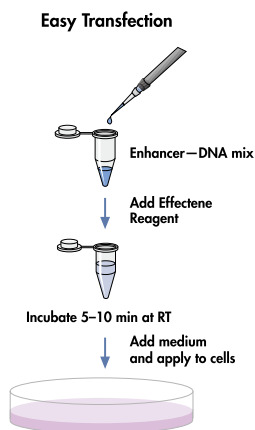


图 3 快速的转染流程

可以反向转染，非常适合高通量研究

反向转染实验中，增强子-DNA 混合物被加入到微孔中或玻片上，然后加入 Effectene 试剂，复合物形成后，将细胞加入到微孔中或玻片上，整个操作简单、快速（图 4）。

High-Throughput Reverse Transfection

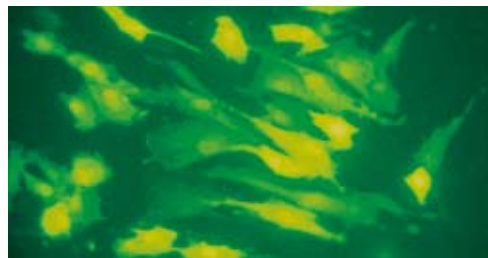
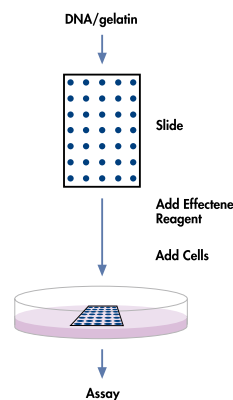


图 1 原代细胞获得 40% 的转染效率。Primary rabbit aortic smooth muscle cells were transfected with 0.4 μg of a green fluorescent protein reporter plasmid using Effectene Transfection Reagent in 6-well plates. Cells were viewed by fluorescence microscopy 24 h after transfection. Approximately 40% of the cells were transfected as determined by FACS[®] analysis. Data kindly provided by K. Veit, 2nd Medical Clinic, Dept. Clinical Pharmacology, Mainz, Germany.

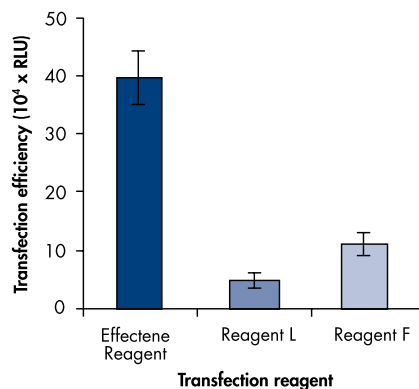


图 2 Effectene 试剂效果优于其它脂质体试剂。Murine teratocarcinoma F9 cells (5×10^5) were transfected in 6-well plates with a luciferase reporter plasmid using Effectene Reagent from QIAGEN or Reagent L or Reagent F from other suppliers, according to the manufacturers' instructions. Transfection efficiencies were determined by measuring luciferase activity 48 h after transfection and are given as relative light units (RLU). Data kindly provided by I. Clavereau, D. Petitprez, and I. Van Seuning, Unité INSERM 377, Place de Verdun, Lille Cedex, France.

Attractene Transfection Reagent NEW

新一代脂质技术，高效转染 DNA，适合所有贴壁细胞

- 极低毒性
- 快速的操作流程，可在转染当天铺细胞
- 适合各种应用，包括 DNA 共转染

对所有贴壁细胞进行高效率的 DNA 转染

Attractene 试剂采用非脂质体的新一代脂质分子技术，能对所有贴壁细胞，包括难转染的细胞如 HaCaT, MonoMac6, HCT116 等，进行高效率 DNA 转染。图 1 结果显示，如不经过任何优化直接使用说明书中推荐的转染程序，与其它试剂对比，Attractene 能够得到更高的转染效率。

极低毒性

确保转染试剂及转染程序不引起毒性是成功转染的关键因素之一，细胞毒性导致细胞死亡或基因表达水平发生变化，使得实验结果难以解释、不可信赖。细胞死亡也不便于观察细胞表型的变化。因此需要尽量减少细胞毒性，使用 Attractene 试剂能够将毒性降至极低水平（图 2）。

适合各种应用

包括共转染不同的 DNA 分子（图 3）。

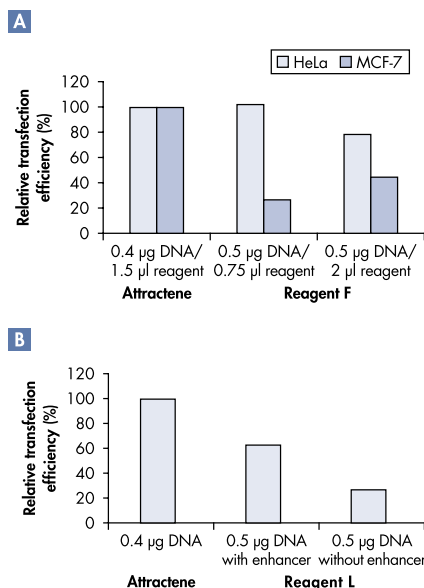


图 1 Attractene 试剂转染效率优于其它试剂。 DNA (pGFP which expresses green fluorescent protein) was transfected into the cell types indicated using Attractene Reagent according to the conditions recommended in the handbook. Transfection was also performed with **A** Reagent F using 2 reagent volumes recommended by the manufacturer or **B** Reagent L according to the manufacturer's recommendations, with and without the enhancer provided. Transfection efficiency was estimated by counting the number of fluorescent cells by FACS[®] analysis. Transfection efficiency is expressed relative to efficiency using Attractene Reagent which was set at 100%.

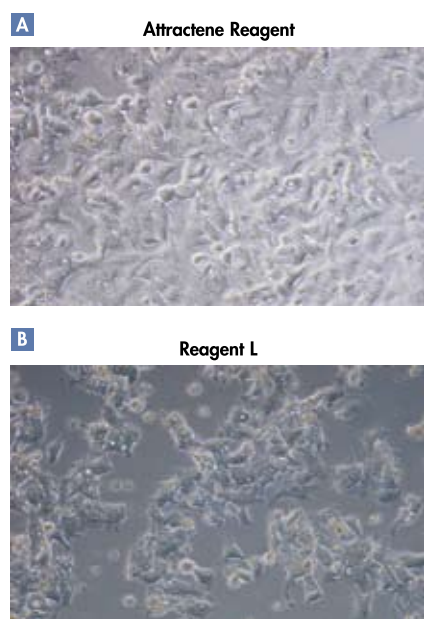


图 2 Attractene 试剂毒性极低。 HepG2 cells were transfected with DNA (pGFP) using Attractene Transfection Reagent or Reagent L from another supplier. **A** Cells transfected using Attractene Reagent were healthy and viable. **B** In contrast, cells transfected using Reagent L displayed high levels of cell death.

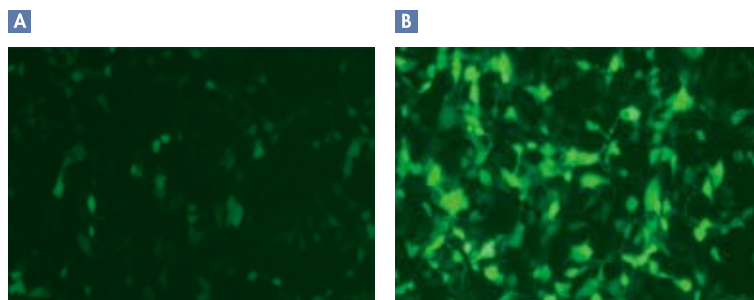


图 3 共转染 shRNA 载体后有效沉默。 Using Attractene Reagent, HEK293 cells were **A** cotransfected with pGFP and a plasmid expressing an shRNA targeted against the green fluorescent protein gene (pGFP + pshGFP), or **B** cotransfected with pGFP and a negative control plasmid expressing a scrambled shRNA (pGFP + pNegative). After cotransfection of pGFP and the shRNA vector pshGFP, the green fluorescent protein was effectively silenced indicating effective cotransfection.

NanoFect Transfection Reagent NEW

采用创新纳米多聚物技术转染 DNA，适合特殊应用

- 化学合成，无脂质分子
- 100% 无动物源，经检测无内毒素
- 快速的操作流程

先进的纳米技术，尤其适合特殊应用

NanoFect 试剂由超微纳米多聚物组成，与 DNA 混合后形成纳米级大小的转染复合物，这种技术能对各种细胞进行高效转染，包括 HeLa, NIH/3T3, Caco-2, 293, COS-7, 和 MCF-7 (图 1)。

由于该试剂无脂质成分、无动物源成分及内毒素，是脂质分子研究或信号传导研究的理想选择。另外对于动物源成分敏感的应用，如生物制药应用，此试剂也是最佳选择。

操作灵活、快速

可提前准备和储存转染复合物 (图 2)，适合自动化系统。在快速的操作流程中，铺细胞和转染在同一天进行 (图 3)，比起需要在转染前一天铺细胞的方法，NanoFect 更快速，让实验更灵活。

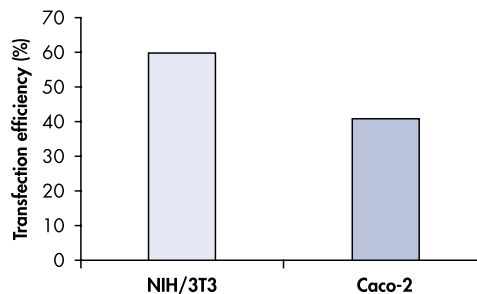


图 1 纳米多聚物技术提供高效转染。Nanopolymer technology provides efficient transfection. DNA (pGFP which expresses green fluorescent protein) was transfected into the cell types indicated using NanoFect Reagent according to the conditions recommended in the handbook. Transfection efficiency was estimated by counting the number of fluorescent cells.

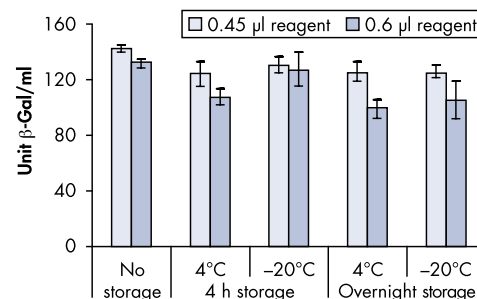


图 2 储存转染复合物未降低效率。Complexes were prepared using the volumes of NanoFect Reagent indicated and 0.25 μg of pCMV β, a plasmid which expresses the lacZ gene. Complexes were immediately transfected into HeLa cells in 96-well plates or stored at 4°C or -20°C. Stored complexes were transfected after 4 hours or overnight storage. 48 hours after transfection, efficiency was measured by ONPG assay. Transfection was highly efficient under all storage conditions.

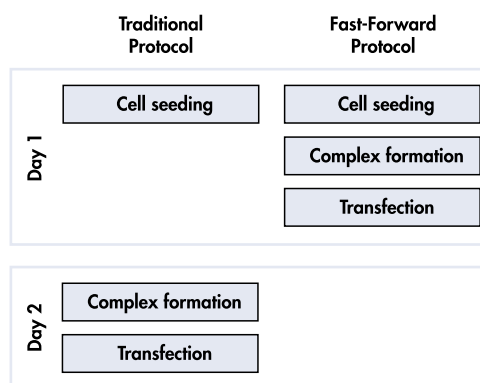


图 3 Fast-Forward Protocol 让铺细胞和转染在同一天进行。

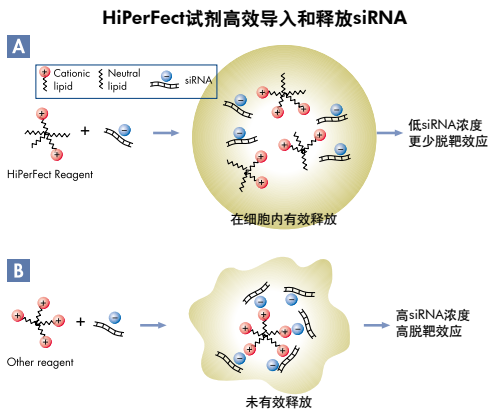


图 1 A HiPerFect Transfection Reagent enables effective siRNA uptake and release in cells. B Suboptimal lipid reagents do not efficiently release siRNA in cells, leading to inefficient knockdown.

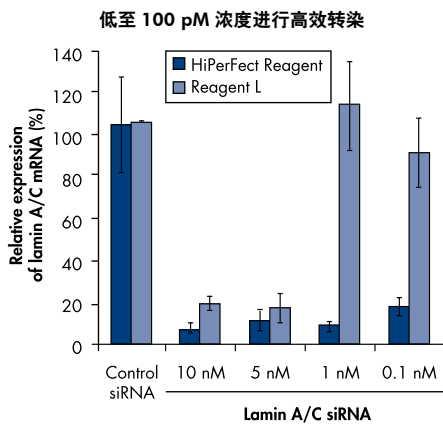


图 2 HeLa cells were reverse transfected in a 384-well plate with a range of concentrations of siRNA targeted against lamin A/C using HiPerFect Transfection Reagent from QIAGEN or Reagent L from another supplier. After 48 hours, gene silencing was assessed by quantitative, real-time RT-PCR.

脱靶效应: Tips

指 siRNA 引起的非特异性沉默效果, 包括引起干扰素反应、抑制非靶基因的表达等。导致脱靶效应的原因很多, 如 siRNA 序列的设计、siRNA 的浓度、转染试剂的毒性、转染操作等方法, 通常可分为序列相关的和序列不相关的。

减少脱靶效应的方法:

减少干扰素效应

- siRNA 序列中避免 IFN motif
- 使用短 siRNA 序列
- 使用低 siRNA 浓度 (通常 <50nM)

减少序列相关的非特异性沉默

- 严格的 3' 端 UTR 同源分析
- 尽量避免使用 siRNA pool
- 使用多条 siRNA 进行验证
- 使用不同的细胞株及检测方法验证

HiPerFect Transfection Reagent

针对 siRNA 的转染试剂

- 更低的“脱靶”效应 — 使用低 siRNA 浓度
- 高效转染原代细胞、悬浮细胞 — 细胞存活率高
- 可用于反向转染, 适合高通量筛选

HiPerFect 试剂采用独特的正电和中性脂质分子的混合物, 确保转染复合物在细胞内有效的释放出 siRNA, 因此可降低 siRNA 用量, 减少了“脱靶”效应。

使用低 siRNA 浓度进行高效转染

siRNA 转染可能引起“脱靶”效应, 产生非特异性的 RNAi 实验结果。使用低浓度的 siRNA 可以大大降低“脱靶”的发生。HiPerFect 试剂在细胞内可以有效释放 siRNA (图 1), 在有些实验中 (图 2) 可观察到, 即便低至 100pM siRNA 也可以达到高效转染。

低细胞毒性

低毒性使得 HiPerFect 试剂适合转染各种细胞类型, 包括原代细胞。Transfection Cell Database (www.qiagen.com/TransfectionTools) 提供成功转染的细胞类型列表及实验细节。

表 1 列举部分 HiPerFect 成功转染的“难转”细胞类型

细胞株	细胞类型	siRNA 浓度 (% 沉默效率)
K562	Human chronic myeloid leukemia, 悬浮细胞	5nM(85%)
Jurkat	Human T-cell, 悬浮细胞	75nM(83%)
RAW264.7	Mouse macrophage, 悬浮细胞	25nM(77%)
PMA- 分化 THP-1	Human acute monocytic leukemia, 悬浮细胞	5nM(82%)
MEL	Murine erythroleukemia cell, 悬浮细胞	5 -20nM(50-70%)
BC-3	Primary effusion leukemia	-(80%)
ES	Mouse embryo stem cell	-(80%)
BM-MSC-M1	Human mesenchymal stem cell	5nM(>95%)

备注: 以上数据由客户提供, 实验细节请查询 Transfection Cell Database.

RNAi Human/Mouse Starter Kit

含有 HiPerFect 转染试剂和 RNAi 对照，用于转染实验的优化

- 简单地建立和优化 RNAi 实验
- 理想的对照，用于人或小鼠的阴性及阳性对照

简单地建立和优化转染

RNAi Human/Mouse Starter Kit 包含的阴性对照是 Alexa Fluor 488 荧光标记的非沉默 siRNA 序列，与已知的哺乳动物基因无同源性，因此可以在荧光显微镜下观察转染的效率，优化最佳转染条件。

包含的阳性对照是经过实验验证的 siRNA 序列，高效沉默人和小鼠的 MAPK1 基因（图 1）。

表 1 试剂盒成分及其它下游分析产品

RNAi Human/Mouse Starter Kit	
产品	用途
Negative Control siRNA, Alexa Fluor 488 Labeled (5 nmol)	非沉默 siRNA 用于转染优化和阴性对照
Hs/Mm_MAPK1 Control siRNA (5 nmol)	阳性对照 沉默人和小鼠 MAPK1 基因
0.5 ml HiPerFect Transfection Reagent	高效转染试剂
9ml siRNA Suspension Buffer	重悬 siRNA
实验手册	实验流程和 RNAi 指导
其它 QIAGEN 可以提供的相关试剂	
产品	用途
HP GenomeWide siRNA	预设计的 siRNA
HP Validated siRNA	经实验验证的 siRNA, 沉默效率 ≥ 70%
Tag • 100 Antibody	抗体，用于 western blot 分析 MAPK1 的水平
QuantiTect Primer Assay	预设计的引物，用于 real-time (RT-) PCR 实验分析 mRNA 水平

Western Blot 分析显示高 MAPK1 沉默效率

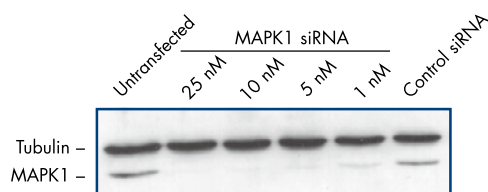


图 1 MCF-7 cells were transfected with positive control MAPK1 siRNA or with nonsilencing siRNA (Control siRNA) using HiPerFect Transfection Reagent. After transfection and incubation, protein expression was determined by western blot analysis. Blots were probed using MAPK1-specific Tag • 100 antibody and anti-tubulin primary antibody. Untransfected cells were also analyzed.

阴性对照的作用: Tips

通过与未转染的细胞比较，如果表达水平或表型有改变，说明转染程序或 siRNA 毒性等因素引起了非特异的改变；通过与基因特异性 siRNA 比较，可以更准确地计算出目标基因的沉默水平，因为阴性对照与特异性 siRNA 经过了同样的实验流程，只是序列不同。

阳性对照的作用: Tips

可以帮助确认实验条件是否合适，这些实验条件包括细胞的状态、转染试剂种类、转染操作方法等。

TransMessenger Transfection Reagent

高效进行 DNA/siRNA 共转染

- 高效进行 RNA 转染及质粒 DNA/siRNA 共转染 — 使用特殊优化的脂质分子配方
- 高效转染原代神经细胞 *
- 快速简单的操作流程

TransMessenger 试剂采用先进的非脂质体脂质分子技术，配合 RNA 浓缩增强子将 RNA 先浓缩，然后将 RNA 包裹起来，这样更容易被细胞吸收，并且能够有效地将 DNA 和 siRNA 共转染到真核细胞中（图 1）。可以在有血清存在的条件下转染。

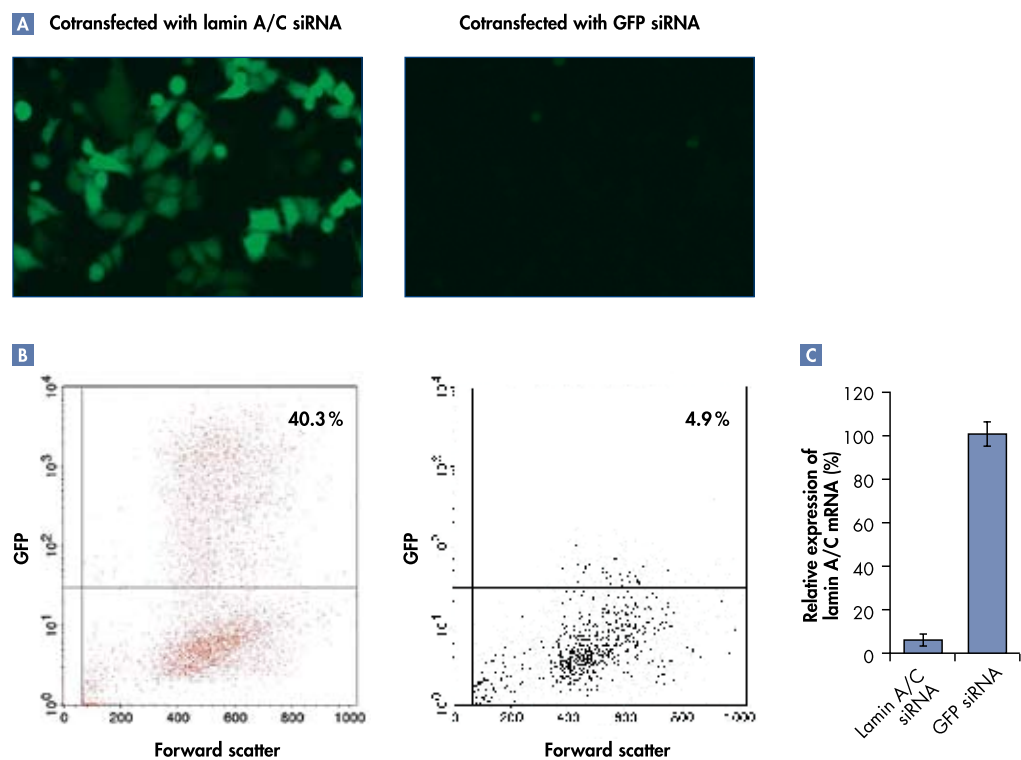


图 1 高效共转染。 HeLa S3 cells were cotransfected with a plasmid expressing green fluorescent protein (GFP) and an siRNA targeting either GFP or lamin A/C using TransMessenger Transfection Reagent. After 20 hours, GFP expression was analyzed by **A** fluorescence microscopy and **B** fluorescence activated cell sorting (FACS, the percentage of cells with GFP fluorescence is shown on the plot). **C** Lamin A/C expression in cells was analyzed using quantitative RT-PCR. Lamin A/C expression was effectively silenced in cells that had been cotransfected with lamin A/C siRNA. GFP expression was effectively silenced in cells that had been cotransfected with GFP siRNA.

* Reference

1. Krichevsky A.M. and Kosik K.S. (2002) RNAi functions in cultured mammalian neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 11926.

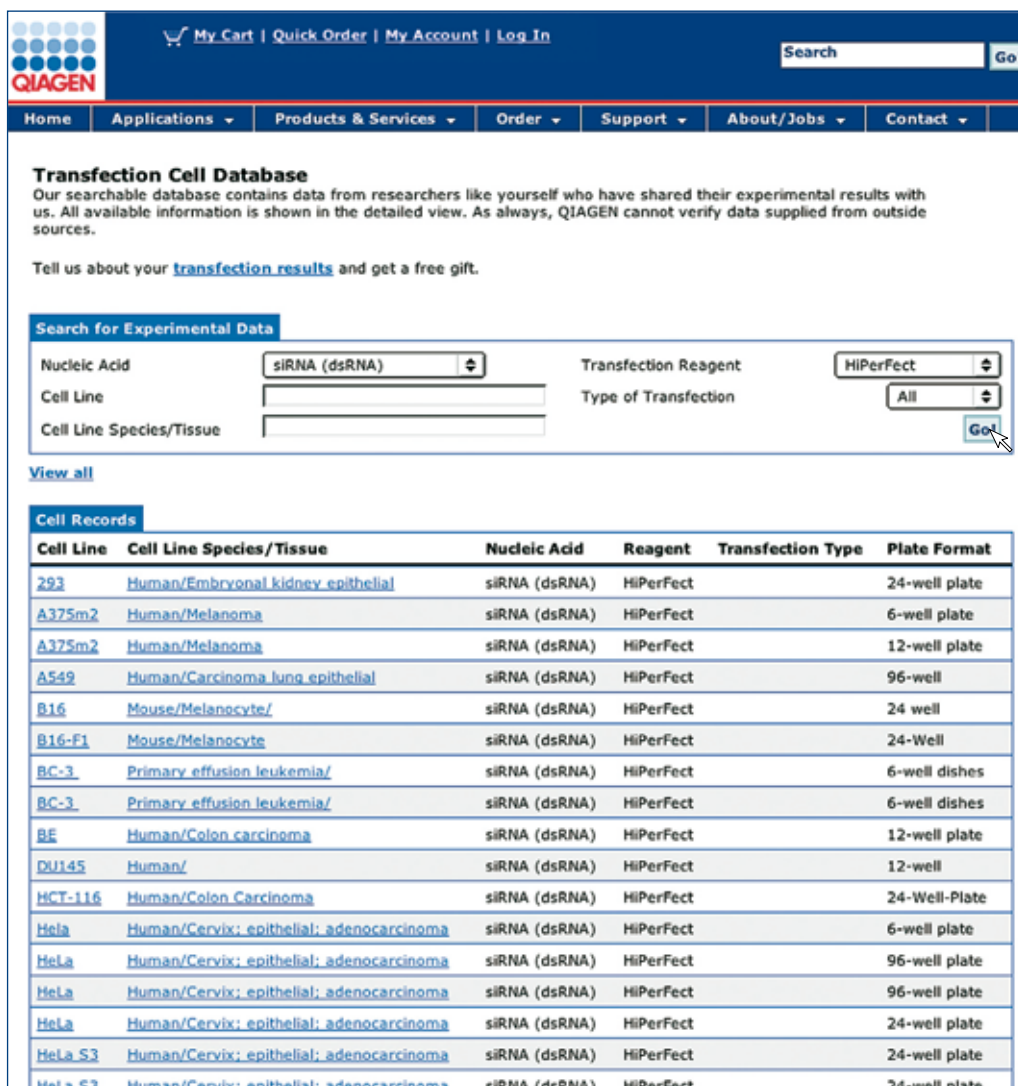
Transfection Cell Database

在线资源，助您快速优化转染

查询 www.qiagen.com/TransfectionTools 进入数据库

这里收集了全球各地的科研工作者提供的成功转染大量不同类型细胞的实验细节，包括生长条件、核酸浓度、细胞数量、培养板的形式、孵育时间等，可以根据转染的核酸类型、使用的细胞株来搜索对您最有用的信息（图 1，2）。

实验细节尽在 Transfection Cell Database



Transfection Cell Database

Our searchable database contains data from researchers like yourself who have shared their experimental results with us. All available information is shown in the detailed view. As always, QIAGEN cannot verify data supplied from outside sources.

Tell us about your [transfection results](#) and get a free gift.

Search for Experimental Data


Nucleic Acid: Transfection Reagent:
Cell Line: Type of Transfection:
Cell Line Species/Tissue:

[View all](#)

Cell Records

Cell Line	Cell Line Species/Tissue	Nucleic Acid	Reagent	Transfection Type	Plate Format
293	Human/Embryonal kidney epithelial	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24-well plate
A375m2	Human/Melanoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		6-well plate
A375m2	Human/Melanoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		12-well plate
A549	Human/Carcinoma lung epithelial	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		96-well
B16	Mouse/Melanocyte/	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24 well
B16-F1	Mouse/Melanocyte	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24-Well
BC-3	Primary effusion leukemia/	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		6-well dishes
BC-3	Primary effusion leukemia/	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		6-well dishes
BE	Human/Colon carcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		12-well plate
DJ145	Human/	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		12-well
HCT-116	Human/Colon Carcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24-Well-Plate
Hela	Human/Cervix: epithelial: adenocarcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		6-well plate
HeLa	Human/Cervix: epithelial: adenocarcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		96-well plate
HeLa	Human/Cervix: epithelial: adenocarcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		96-well plate
HeLa	Human/Cervix: epithelial: adenocarcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24-well plate
HeLa_S3	Human/Cervix: epithelial: adenocarcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24-well plate
HeLa_S3	Human/Cervix: epithelial: adenocarcinoma	siRNA (dsRNA)	HiPerFect		24-well plate

图 1 设定好搜索条件后，点击 页面即可显示出符合要求的结果。


[My Cart](#) | [Quick Order](#) | [My Account](#) | [Log In](#)

[Home](#) | [Applications](#) | [Products & Services](#) | [Order](#) | [Support](#) | [About/Jobs](#) | [Contact](#)

Transfection Cell Database - Detailed View

[Back to search results](#)

Cell Line: WI-38

Cell Line Species/Tissue:	Human / Lung fibroblast
Transfection Reagent:	HiPerFect
Nucleic Acid:	siRNA (dsRNA)
Growth Medium:	MEM with L-Glu; supplemented with Vitamins(1/100) and non essential aminoacids (1/100)
Percent Serum (%):	20 %
Reporter System:	
Plasmid Purification Method:	
Plate Format:	30 mm wells (mostly in 6-well plates)
Number of Cells:	225,000 per well
Percent Confluence(%):	Approx. 60-70 %
Amount of Nucleic Acid (µg):	2 µg per well
Amount of Enhancer (µl):	
Amount of Reagent (µl):	80 µl
Complex Incubation on Cells (hrs):	24 h
Analysis Performed Post-Transfection (hrs):	72 h
Transfection Efficiency (%):	90 %
Knockdown Efficiency (%):	80 %
Any modifications to the protocol?:	
	Adjusted the amount of HiPerFect Reagent
Notes:	
References:	


图 2 举例说明在图 1 界面中点击感兴趣的细胞株，页面即显示出详细的实验数据。

TransFect Protocol Database

提供针对某个特定细胞株的转染实验流程

查询 www.qiagen.com/TransFect

选择细胞类型、待转染的核酸类型、培养板形式，点击 [Generate Protocol](#)（图 1），即可以得到 PDF 格式的实验操作流程（图 2）。TransFect Protocol Database 免费使用，无需注册。目前已经有针对上百种细胞转染 DNA、RNA、siRNA 或 miRNA 的 Protocol，并且数量在不断地增加。



Transfection protocol

Cell Line: HCT-116

Nucleic Acid: DNA

Plate Format: 24-well plate

[Generate Protocol](#)


图 1 TransFect Protocol Database 提供简单、易用的界面来搜索操作流程。

TransFect Protocol Database

This invaluable resource for transfection experiments takes the guesswork out of transfection protocols. Rather than adapting existing protocols to fit a certain cell type or plate format, the database provides exactly the protocol needed, saving time and effort. Simply select the cell type, nucleic acid, and culture format to receive a QIAGEN transfection protocol to print out or download in convenient PDF format.

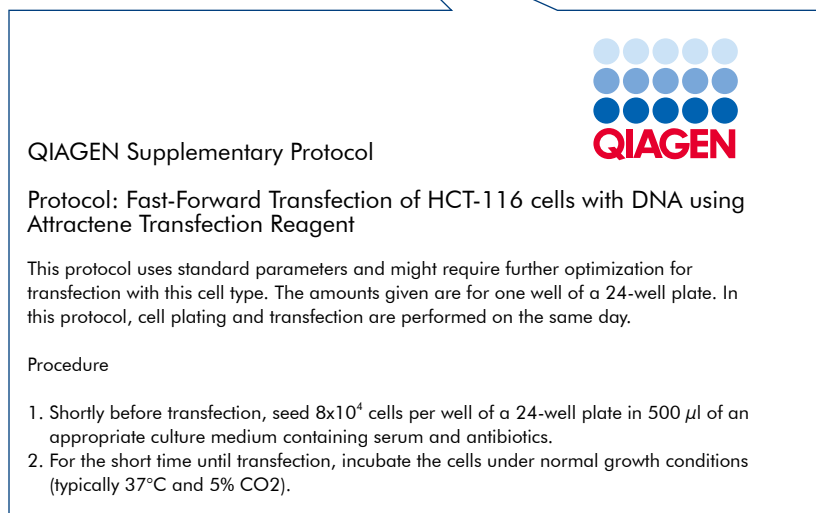
Download Transfection protocol

We've successfully generated your custom Transfection protocol for the [Attractene Transfection Reagent](#).

 [Download your protocol](#)

If you have any questions, don't hesitate to contact [Technical Service](#).

图 2 下载 PDF 格式的转染 Protocol。



QIAGEN Supplementary Protocol

QIAGEN

Protocol: Fast-Forward Transfection of HCT-116 cells with DNA using Attractene Transfection Reagent

This protocol uses standard parameters and might require further optimization for transfection with this cell type. The amounts given are for one well of a 24-well plate. In this protocol, cell plating and transfection are performed on the same day.

Procedure

1. Shortly before transfection, seed 8×10^4 cells per well of a 24-well plate in 500 μ l of an appropriate culture medium containing serum and antibiotics.
2. For the short time until transfection, incubate the cells under normal growth conditions (typically 37°C and 5% CO₂).

图 3 举例说明 PDF 格式的 Protocol。

常见转染问题解答指南

低转染效率

很多种因素会导致转染效率低，包括：

- 不恰当的转染试剂与核酸比例
- 转染复合物量偏少
- 转染后孵育的时间不合适
- 产生有毒性的基因产物
- 转染时细胞密度不合适
- DNA/RNA 品质低
- 报告检测系统有问题

因此，优化转染条件，尤其是载体用量、转染试剂与核酸的比例、转染复合物的量，应该能够提高转染效率，推荐以下步骤进行优化：

1. 改变转染试剂与核酸的比例，确定达到最高效率的比例。
2. 如果细胞毒性低，保持最佳的比例，增加总的复合物的量。
3. 如果随着转染效率提高细胞毒性也提高了，减少转染复合物孵育的时间，并且孵育后用 PBS 洗 2-3 次细胞。

另外，确保细胞密度合适、载体的纯度高以及转染后孵育恰当的时间来表达转入的基因。建议放置阳性和阴性对照，以便问题出现时能快速查找原因。

大量细胞死亡

可能的因素包括：

- 转染复合物存在于细胞培养液中的时间过长
- 使用过量的转染复合物
- 细胞生长状态不佳
- 载体或转染试剂有毒性

有些细胞株可能对转染复合物的用量或其存在的时间长短非常敏感。降低共孵育时间或复合物用量可能有帮助，推荐以下步骤进行优化：

1. 从细胞中去除复合物后，温和地用 PBS 或完全培养液洗涤细胞 2-3 次。
2. 如果毒性还是很高，保持转染试剂与核酸的比例不变，减少复合物量。
3. 如果毒性还是很高，减少转染复合物孵育的时间。
4. 如果毒性降低了，但转染效率也降低了，优化转染试剂与核酸的比例。

另外，避免让细胞受到不利因素刺激，如转染时温度的改变、洗涤过程长时间缺乏培养液。推荐转染在血清存在的情况下进行，这样细胞可以获得生长因子等营养物质。但是，需注意的是，血清中可能存在 RNases，对于 RNA 的转染可能不利。如果载体翻译毒性蛋白或带有强增强子，优化载体也会有助于减少毒性。

重复实验中转染效率有差异

通常是由于细胞培养相关的因素造成：

- 细胞密度不一致
- 支原体污染
- 细胞经过太多次传代
- 血清品质不稳定

保持同样的转染条件对于重复实验获得稳定一致的结果非常重要。确保铺同样的细胞数、铺细胞后加转染复合物前的孵育时间一致，尽量使用同批次的血清，使用传代少的细胞（通常 <50 次传代）。

产品	规格	货号
PolyFect Transfection Reagent — fast and easy DNA transfection of standard cell lines		
PolyFect Transfection Reagent (1 ml)*	For 25-65 transfections in 60 mm dishes or 50-100 transfections in 6-well plates	301105
PolyFect Transfection Reagent (4 x 1 ml)*	For 100-260 transfections in 60 mm dishes or 200-400 transfections in 6-well plates	301107
PolyFect Transfection Reagent (100 ml)*	For 2500-6500 transfections in 60 mm dishes or 5000-10,000 transfections in 6-well plates	301108
Effectene Transfection Reagent — the reagent of choice for DNA transfection of primary cells		
Effectene Transfection Reagent (1 ml)*	1 ml Effectene Reagent, Enhancer, Buffer EC; for 40 transfections in 60 mm dishes or 160 transfections in 12-well plates	301425
Effectene Transfection Reagent (4 x 1 ml) *	4 x 1 ml Effectene Reagent, Enhancer, Buffer EC; for 160 transfections in 60 mm dishes or 640 transfections in 12-well plates	301427
NEW Attractene Transfection Reagent — the reagent of choice for DNA transfection of adherent cells		
Attractene Transfection Reagent (0.5 ml)	Reagent for up to 330 transfections in 24-well plates	301004
Attractene Transfection Reagent (1 ml)	Reagent for up to 660 transfections in 24-well plates	301005
Attractene Transfection Reagent (4 x 1 ml)	Reagent for up to 2640 transfections in 24-well plates	301007
NEW NanoFect Transfection Reagent — DNA transfection for lipid or signal transduction research		
NanoFect Transfection Reagent (0.5 ml)	Reagent for up to 250 transfections in 24-well plates	301204
NanoFect Transfection Reagent (1 ml)	Reagent for up to 500 transfections in 24-well plates	301205
NanoFect Transfection Reagent (4 x 1 ml)	Reagent for up to 2000 transfections in 24-well plates	301207
HiPerFect Transfection Reagent — high target knockdown using siRNA with reduced off-target		
HiPerFect Transfection Reagent (0.5 ml)*	For up to 166 transfections in 24-well plates	301704
HiPerFect Transfection Reagent (1 ml)*	For up to 333 transfections in 24-well plates	301705
HiPerFect Transfection Reagent (4 x 1 ml)*	For up to 1332 transfections in 24-well plates	301707
HiPerFect Transfection Reagent (100 ml)*	For transfections in up to 1388 96-well plates	301709
RNAi Human/Mouse Starter Kit — all you need for siRNA transfection optimization and RNAi control experiments		
RNAi Human/Mouse Starter Kit	0.5 ml HiPerFect Transfection Reagent, Nonsilencing Control siRNA (Alexa Fluor 488 Labeled), Hs/Mm_MAPK1 Control siRNA	301799
TransMessenger Transfection Reagent — efficient plasmid DNA/siRNA cotransfection		
TransMessenger Transfection Reagent (0.5 ml)*	For 60 transfections in 6-well plates or 80 transfections in 12-well plates	301525

备注：QIAGEN 提供的转染试剂经过严格的品质控制，以确保批次与批次之间的稳定一致性。

* 如需大包装，请联系 QIAGEN China，大包装规格有 50ml、100ml、500ml。

电话：021-38653865 技术支持热线：800-988-0325 E-mail: china@qiagen.com

转染实验指南

凯杰生物技术（上海）有限公司

Tel: 021-3865 3865 Fax: 021-3865 3965

技术支持热线

Tel: 800-988-0325 Fax: 800-988-0327

