

# Polyvecta DNA 体外转染试剂使用说明书

## AR Polyvecta DNA Transfection Reagent Instruction

**AC0031**

### 产品信息

产品名称	产品货号	规格
Polyvecta DNA Transfection Agent	AC0031S	0.75 mL
	AC0031M	1 mL
	AC0031L	1.5 mL

### 保存条件

冰袋运输，收到后置于 4℃ 保存，有效期 1 年。

### 产品介绍

Polyvecta DNA Transfection Agent 是新一代稳定、高效、实惠的瞬时转染试剂，其具有与 DNA 稳定结合、有效进入细胞和逃离内质的能力，因此在细胞转染过程中，具有卓越、低毒的出色表现。Polyvecta DNA Transfection Agent 广泛适用于多种类型的细胞系，且与其他市售转染试剂相比，能够在不损伤细胞条件下高效转染。

### 产品特点

- 具有极高的转染效率；
- 应用范围广，适用于贴壁和悬浮细胞，可满足瞬时转染和稳定转染；
- 细胞毒性小，且转染稳定；
- 稳定性好，4℃ 保存长达一年；
- 操作简单；
- 经济节约，较同类试剂花费更少。

### 转染步骤

#### 1. 细胞接种

提前一天将待转染细胞接种于合适器皿中，调整细胞数量与浓度，应保证转染时细胞密度约为 60%–80%。（请根据细胞种类自行调整细胞密度）

细胞培养用品	表面积 (mm <sup>2</sup> /孔)	细胞密度	培养基用量
96 孔板	50	1.5x10 <sup>4</sup> -5.0x10 <sup>4</sup>	100 μl
48 孔板	100	3.0x10 <sup>4</sup> -1.0x10 <sup>5</sup>	200 μl
24 孔板	200	8.0x10 <sup>4</sup> -2.0x10 <sup>5</sup>	500 μl
12 孔板	401	1.6x10 <sup>5</sup> -4.0x10 <sup>5</sup>	1.0 mL
6 孔板	962	3.0x10 <sup>5</sup> -8.0x10 <sup>5</sup>	2.0 mL
35 mm	962	3.0x10 <sup>5</sup> -8.0x10 <sup>5</sup>	2.0 mL
60 mm	2827	1.0x10 <sup>6</sup> -2.5x10 <sup>6</sup>	6.0 mL

## 2. 配制转染复合物

- 1) 将质粒/DNA、Polyvecta 转染试剂和对应培养基升至室温，依据对应比例使用无血清/蛋白稀释液及分别稀释 Polyvecta 和 DNA，并充分混匀，室温静置孵育 5 分钟。（稀释液推荐采用无血清 OPTI-MEM、DMEM 或 1640）；
- 2) 将 Polyvecta 稀释液加入 DNA 稀释液中，充分混匀（可涡旋震荡或使用移液枪吹打混匀）后室温静置孵育 15 分钟形成转染复合物。

细胞培养用品	表面积 (mm <sup>2</sup> /孔)	DNA 总量/孔	稀释液用量	Polyvecta 用量	培养基总量/孔
96 孔板	50	0.2 μg	10 μl	0.4 μl	100 μl
48 孔板	100	0.3 μg	15 μl	0.6 μl	200 μl
24 孔板	200	0.8 μg	25 μl	1.6 μl	500 μl
12 孔板	401	1.6 μg	25 μl	3.2 μl	1 ml
6 孔板	962	4 μg	50 μl	8 μl	2 ml
35 mm	962	4 μg	50 μl	8 μl	5 ml
60 mm/T25 flask	2827	8 μg	125 μl	16 μl	5 ml
10 mm/T75 flask	5800	24 μg	500 μl	48 μl	15 ml

**注：** DNA 与转染试剂的用量比例是决定转染效率的重要因素，且不同实验条件如细胞品系、细胞状态、DNA/质粒纯度等均会造成转染效率差异，因此建议在正式实验前设置预实验对 DNA 与 Polyvecta 比例进行优化调整，推荐优化范围为 1:1-1:4 以供参考。

## 3. 细胞转染

将转染复合物加入至含细胞的无血清培养基的器皿中，轻柔混匀，放置于 CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中继续培养约 6-10 小时后更换为含有血清的完全培养基，继续培养。

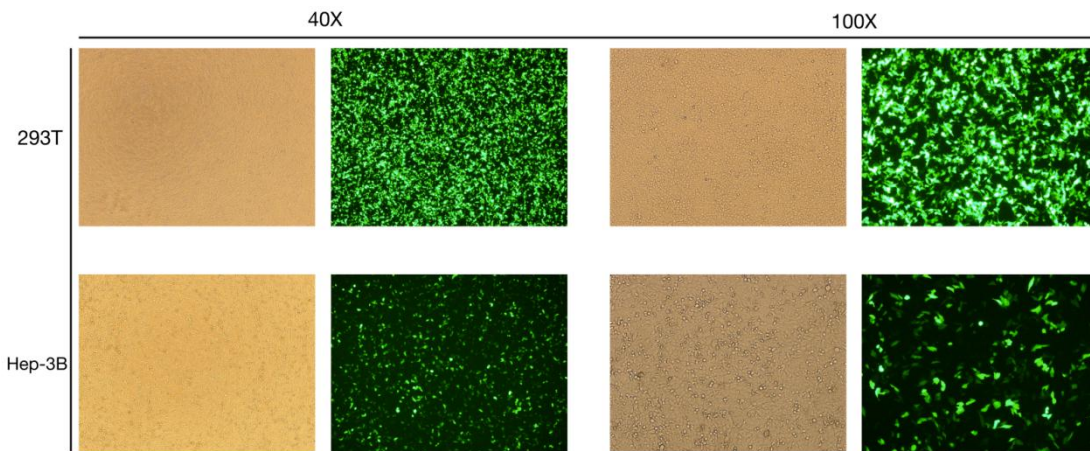
#### 4. 转染效果检测

转染 48-72 小时内，均可进行 DNA 转染效果的检测，最佳检测时间与细胞类型和培养条件相关，对转染结果进行检测后可进行其他接续实验。以下为几种常用的转染结果检测方法：

对于质粒无荧光标签的转染结果可采用试试荧光定量 PCR 等方法检测靶基因的 mRNA 水平变化或 Western blot 方法检测靶基因的蛋白水平；

对于带有荧光标签质粒转染结果可直接使用荧光显微镜观察荧光。

### 部分细胞转染效果



### 常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
转染 24 小时效率较低	DNA/质粒纯度低	建议使用 OD260/280>1.8 的 DNA, 无蛋白、RNA 和内毒素
	细胞密度过高	可在细胞密度约为 60%左右进行转染
	培养时间较短	可减少转染时细胞密度并延长转染时间
	DNA 与 Polyvecta 比例不佳	设置预实验进行优化
	细胞状态不佳	建议多设置平行对照
细胞毒性	细胞污染	进行细胞培养相关用品消毒灭菌
	质粒表达系统毒性	使用不含内毒素质粒、可设阳性对照质粒以比较转染效果

### 注意事项

1. 为了您的安全与健康，请着实验服并佩戴一次性手套进行操作，如不慎沾染，请立即使用流水清

洗。请用户使用前务必认真阅读本册；

2. 请务必使用高质量的无内毒素质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度，260nm/280nm 比值确定 DNA 纯度（比值应该在 1.8~2.0 的范围之内）；
3. 请使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保培养基没有被细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞，请在转染前至少传代两次。
4. 对于某些类型的细胞如 HEK-293、HEK293T、NIH/3T3 和 COS 细胞，在转染前两天铺板可显著提高重组蛋白的表达水平。如果选择转染前两天铺板，可适当降低铺板密度，以确保转染时细胞的汇合度仍为 60-80%。
5. 对于接触抑制敏感的细胞，可适当降低铺板密度。