

## KEL 转染试剂操作手册

### 1. 产品规格

货号	名称	规格	应用
KC112-1.5	<b>KEL-DR Transfection Reagent</b>	1.5ml	体外转染 DNA 质粒或 RNA
KC127-1.5	<b>KEL-R Transfection Reagent</b>	1.5ml	体外转染 RNA 专用

### 2. 产品描述

KEL有两款转染试剂，一款是通用型试剂可以转染DNA质粒和RNA的。另一款是专门转染RNA的。两款试剂都是纳米粒子材料。与其它转染试剂相比，KEL转染试剂具有毒性低、稳定性好、转染简单易行、重复性好等优点。

### 3. 应用范围

KEL 转染试剂适应于众多原代培养细胞和转化细胞株的转染，瞬时转染和稳定转染，可用于多种贴壁细胞以及悬浮细胞系，特别适用于各种常规细胞如 293，293T，COS7，A549，hela 等细胞，均能得到较高的转染效率，且重复性好。

### 4. KEL-DR Transfection Reagent 是通用型转染试剂，转染 DNA 质粒实验步骤如下：

#### DNA 转染流程

下列步骤适以 24 孔板为例，所有试剂用量和体积均是按孔计算。

1. 贴壁细胞：转染前一天每孔  $0.5-2.0 \times 10^5$  个细胞接种于 500 $\mu$ L 完全培养基中，转染时细胞长至 50% 融合最佳。

**注：此处务必用带血清的完全培养基，否则细胞容易死。**

#### 2. 转染复合物的制备

- A 将 **KEL-DR Transfection Reagent** 转染试剂放置于室温中，使用前轻轻混匀；
- B 在无菌管中加入 50 $\mu$ L OPTI-MEM 或基础DMEM，并添加 2 $\mu$ L 转染试剂，用移液器轻轻混匀，室温静置 5 min；
- C 在另一无菌管中加入 50 $\mu$ L OPTI-MEM 或基础DMEM，并添加 0.5 $\mu$ g DNA 质粒，用移液器轻轻混匀，室温静置 5 min；
- D 将 **KEL-DR Transfection Reagent** 培养基混合物滴加至 DNA 质粒培养基混合物中，用移液器轻轻混匀，室温静置 15~20 min 后，立即转染。

**注：B和C中稀释用的培养基不能含血清。**

3. 在每孔细胞中加入 100 $\mu$ L 转染复合物，轻轻摇匀。

4. 转染 6-8 小时后可更换完全培养基。
5. 37℃培养 48-72 小时可检测mRNA 表达，48-96 小时检测蛋白表达。

5. KEL-R Transfection Reagent 是 RNA 专用型转染试剂，转染 siRNA 实验步骤如下：

**siRNA 转染流程**

下列步骤以 24 孔板为例，所有试剂用量和体积均是按每孔计算。

1. 贴壁细胞：转染前一日，每孔  $0.5-2.0 \times 10^5$  个细胞接种于 500μL 完全培养基 中，转染时细胞长至 70% 融合最佳。

**注：此处务必用带血清的完全培养基，否则细胞容易死。**

2. 转染复合物的制备

A 将 KEL-R Transfection Reagent 转染试剂放置于室温中，使用前轻轻混匀；

B 在无菌管中加入 50ul OPTI-MEM 或基础DMEM，并添加 2ul 转染试剂，用移液器轻轻混匀，室温静置 5 min；

C 在另一无菌管中加入 50ul OPTI-MEM 或基础DMEM，并添加40pmol siRNA，用移液器轻轻混匀，室温静置 5 min；

D 将 KEL-R Transfection Reagent 培养基混合物滴加至 siRNA 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：B和C中稀释用的培养基不能含血清。**

3. 在每孔细胞中加入 100ul 转染复合物，轻轻摇匀。

4. 转染 6-8 小时后可更换成完全培养基。

5. 37℃培养 48 小时检测 mRNA 表达，48或72 小时检测蛋白表达。

培养板	培养孔面积	接种培养液 ①	稀释用 Opti-MEM	siRNA 转染		DNA 转染	
				siRNA	转染试剂	DNA	转染试剂
96 孔板	0.3cm <sup>2</sup>	100μL	2×10μL	20 pmol	1ul	0.2ug	1ul
24 孔板	2.0cm <sup>2</sup>	500μL	2×50μL	40 pmol	2ul	0.5ug	2ul
12 孔板	4.0cm <sup>2</sup>	1mL	2×100μL	60 pmol	3ul	1ug	3ul
6 孔板	10.0cm <sup>2</sup>	2mL	2×200μL	100 pmol	5ul	2ug	5ul
60mm	20.0cm <sup>2</sup>	5mL	2×0.5mL	200 pmol	12ul	6ug	12ul
10cm	60.0cm <sup>2</sup>	15mL	2×1mL	500 pmol	25ul	12ug	25ul

## 6. 转染效率低影响因素

影响因素	解决方法
质粒	1. 质粒的浓度太低—建议使用适宜的质粒浓度 2. 质粒的纯度—建议使用高质量的质粒（OD260/280>1.8） 3. 应使用不含内毒素的质粒
细胞生长状态	稀释转染试剂和siRNA/DNA的培养基，最好用opti-MEM培养基。其次推荐用普通的高糖或者低糖DMEM培养基。不要用含有细胞因子一类的培养基稀释。会对细胞产生毒性。
复合比例	优化转染试剂/DNA 的复合比例，在推荐的最佳复合比例附近，实验不同的比例，本产品在大多数细胞中的最适用量比不超过 5/1
培养时间	如使用敏感的细胞株，建议减少复合物与细胞的作用时间

## 7. 产品储存

KEL 转染试剂可在室温下运输，到货后 4°C 可保存 2 年，本产品已滤菌，使用前轻轻摇匀。

冬季寒冷，如果出现结冻的现象，要将本产品恢复至室温后使用。

## 8. 注意本转染试剂不能用于人体实验。