

# Hieff Trans<sup>®</sup> Suspension Cell-Free Liposomal Transfection Reagent

## Hieff Trans<sup>®</sup> 悬浮细胞专用脂质体核酸转染试剂

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff Trans <sup>®</sup> Suspension Cell-Free Liposomal Transfection Reagent	40805ES02	0.5 mL
Hieff Trans <sup>®</sup> 悬浮细胞专用脂质体核酸转染试剂	40805ES03	1.0 mL
	40805ES08	5×1 mL

### 产品描述

Hieff Trans<sup>®</sup> 悬浮细胞专用脂质体核酸转染试剂是一种阳离子脂质体转染试剂，经优化专门用于悬浮细胞的转染，且适用于 DNA、RNA 和寡核苷酸的转染，对大多数真核细胞具有很高的转染效率。

Hieff Trans<sup>®</sup> 悬浮细胞专用脂质体核酸转染试剂以无菌的液体形式提供。

### 运输与保存方法

冰袋（wet ice）运输。产品 2-8°C 保存，一年有效。不可冷冻！

### 注意事项

- 为得到最优的转染效率，请先用无血清培养基（如 OPTI-MEM I 培养基）稀释 Hieff Trans<sup>®</sup> Suspension Cell-Free Liposomal Transfection Reagent（以下简称 Hieff Trans<sup>®</sup>），之后与 DNA 或 RNA 做混合。
- 使用高质量的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率，务必确保质粒的高纯度和无菌状态，彻底去除质粒提取过程中可能残留的苯酚和高盐，因为上述酚类会对细胞造成损失，而高盐分会干扰“Hieff Trans<sup>®</sup>-复合物”的形成。质粒中的内毒素也是转染的大敌，务必去除。
- 转染时培养基中不能添加抗生素。
- 阳离子脂质体应该在 2-8°C 保存，要注意避免多次反复长时间开盖，因为可能会导致脂质体氧化而影响转染效率。
- 需优化 DNA 浓度和阳离子脂质体试剂量以得到最大的转染效率。DNA 和 Hieff Trans<sup>®</sup> 的比例，通常推荐是 1:2 或 1:3

### 推荐转染条件（以 293 悬浮培养细胞，质粒 DNA 转染为例）

**最终转染体积：**30 mL

**转染细胞数目：**3×10<sup>7</sup> cell（最终细胞密度：1×10<sup>6</sup> cell/mL），转染之前需要确保细胞健康，细胞活力>90%。

**质粒 DNA 量：**20–40 μg (typically use 30 μg)

**转染试剂量：**40–80 μL (typically use 60 μL). Use 2 μL Hieff Trans<sup>®</sup> per 1 μg of plasmid DNA transfected.

### 操作步骤（293 悬浮细胞）

使用以下步骤在 30 mL 总体系内转染 293 细胞，转染过程中生长培养基内不要添加抗生素，否则会降低转染效率。转染过程请同时设置阳性对照组和阴性对照组（无 DNA，无 Hieff Trans<sup>®</sup>）。

**【注】对于其他的培养总体系，按比例放大或者缩小各组分量。**

- 转染当天，在配制复合物之前，准备转染需要的细胞量【见上推荐转染条件，即 28 mL 生长培养基内加入 3×10<sup>7</sup> cell，台盼蓝排斥法确定细胞活力和小量细胞成团量。剧烈漩涡混匀 45 s 以打破细胞团，并用计数器测定总细胞量。细胞活力需>90%。】**【注】：为了达到最优效率，确保单细胞悬液。**
- 按照以下方法配制 Hieff Trans<sup>®</sup>-DNA 复合物，
  - 用无血清培养基（如 OPTI-MEM I）稀释 30 μg 质粒 DNA，使其终体积为 1 mL；

- 
- b. 用无血清培养基（如 OPTI-MEM I）稀释 60  $\mu$ L Hieff Trans<sup>®</sup>，使其终体积为 1 mL；轻轻混匀，于室温孵育 5 min；【注意】：过长时间孵育会降低效率。
- c. 孵育 5 min 之后，将稀释的质粒 DNA 加入稀释的 Hieff Trans<sup>®</sup>，使其总体积为 2 mL。轻轻混匀。
- d. 室温孵育 20-30 min，使得 DNA-Hieff Trans<sup>®</sup> 复合物形成。此时溶液可能会混浊，但不会影响转染。
- 【注意】：DNA-脂质体复合物室温至少稳定保存 5 h。
3. 孵育完全后，将 2 mL DNA-Hieff Trans<sup>®</sup> 复合物加入 28 mL 含 293 悬浮细胞的生长培养基内，使得细胞最终的密度约为  $1 \times 10^6$  cell/mL。对于阴性对照，用 2 mL 无血清培养基（如 OPTI-MEM I）替换。
4. 37°C，5% CO<sub>2</sub> 轨道摇床培养，转速 125 rpm，直至进行转基因表达分析，无需去掉复合物或更换培养基。然而，可能有必要在 4-6 h 后更换生长培养基，不会降低转染活性。