



Transfection Reagent

POLOdeliverer 3000转染试剂

使用手册

User Manual

POLOdeliverer 3000 产品简介

POLOdeliverer 3000（简称POLO 3000）是一种具有自主知识产权、独特配方的生物大分子转染试剂，具有转染效率高、低毒性、操作方便等优点，适用于哺乳动物细胞系的瞬时转染和稳定细胞系构建。POLOdeliverer 3000跟常规转染试剂相比具有如下优势：

- ◆ 操作简单：一步转染，转染前后均不需要换液；
- ◆ 转染高效：可得到较高水平的蛋白表达；
- ◆ 细胞毒性低：对细胞生长基本无影响；
- ◆ 转染类型广：对贴壁细胞和悬浮细胞的瞬时转染或稳定转染均有效；
- ◆ 适用性广：适用于微孔板转染，也适用于生物反应器的大量转染。

该产品可高效转染HEK293/293T, CHO等工业细胞, 适于转染多种肿瘤细胞及正常细胞系, 如HepG2, LO2, T24, NIH-3T3, MCF7等。

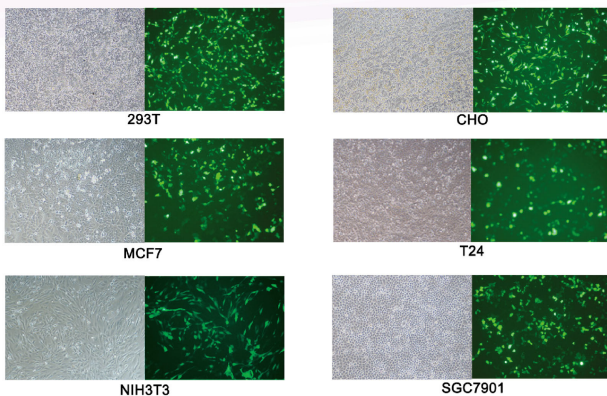


图1 POLOdeliverer 3000试剂对各种细胞转染效果的示例图片

产品包装

产品货号	产品规格
CT001-1	1.5 mL
CT001-2	100 μ L

贮藏条件

温度	保质期	用法
4 $^{\circ}$ C	半年	日常使用
-20 $^{\circ}$ C	2年	长期贮存, 忌反复冻融

细胞转染 基本步骤

- ① 于转染前一天，接种 6×10^4 个细胞至 24 孔板中，每孔 500 μ L 完全培养液（无双抗），置于细胞培养箱中培养，使转染前细胞密度约 60–70%。
- ② 按照每孔 1 μ g DNA 或 1–10 pmol dsRNA 和 2.5 μ L POLOdeliverer 3000 分别稀释到 50 μ L 基本 DMEM 培养基中（RPMI1640 或 opti-MEM 亦可），混匀后室温放置 5 min。
- ③ 将上述 POLOdeliverer 3000 溶液滴加到 DNA 或 dsRNA 溶液中，轻轻混匀后室温下放置 10–15 min。
- ④ 将上述混合物均匀滴加到 24 孔板细胞中，轻轻摇匀，转染前不需要换液。
- ⑤ 将转染的细胞在 37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 条件下培养 48–72 h，转染后不需要换液，能满足细胞正常生长的营养即可。也可根据实验需要，在转染 12–24 h 后换液。质粒 DNA 转染 48–72 小时后根据实验需要进行瞬时表达分析或进行稳定细胞系的筛选；dsRNA 转染 8–24 小时后收样检测。

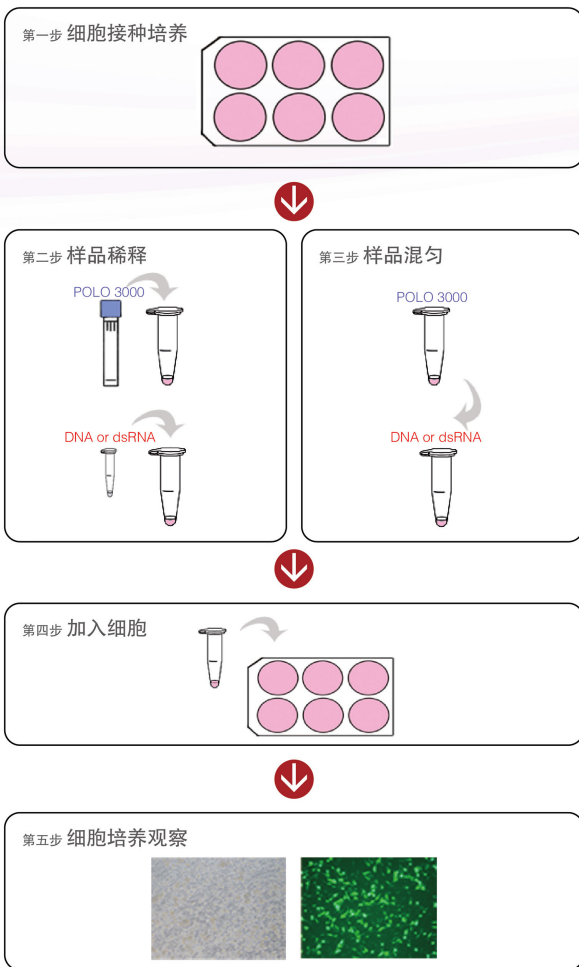


图2 POLOdeliverer 3000转染试剂的操作示意图

POLOdeliverer 3000与DNA/dsRNA 稀释表

Culture Vessel	Surface area (cm ²)	Typical volume of medium (mL)	Recommended quantity of DNA* (μg)	Recommended quantity of dsRNA* (pmol)	Recommended volume of POLOdeliverer 3000* (μL)	Dilut in media respectively (μL)	Complete medium in well
96-well	0.3	0.1	0.2	0.1-1	0.4	10/10	80 μL
24-well	2	0.5	1	1-10	2	50/50	0.4 mL
12-well	4	1	2	2-20	4	100/100	0.8 mL
6-well	10	2	4	5-50	8	250/250	1.5mL
35-mm	10	2	4	5-50	8	250/250	1.5mL
60-mm	30	5	10	15-150	20	500/500	4mL
10-cm	55	10	20	50-500	40	1000/1000	8mL
T25	25	5	10	25-250	20	500/500	4mL
T75	75	20	30	75-750	60	1500/1500	17mL

★上表中给出的 DNA/dsRNA 和 POLOdeliverer3000 的用量的参数是由 pEGFP-N1 转染 293T, HepG2, MCF-7 得出的, 若转染其他细胞系可对 DNA/dsRNA 和 POLOdeliverer 3000 的用量, 细胞密度及转染时间等进行优化, 以获得最佳转染效率。

常见问题

Q: siRNA 转染和 DNA 转染有什么差异，需要注意哪些方面？

A: 有一定的差异，由于转染试剂对细胞有一定毒性导致细胞死亡，如果是转染过表达基因质粒 DNA，死亡一些细胞对过表达蛋白本身来说影响不大，而 siRNA 的转染，死亡细胞所有基因表达（包括特定目标基因）都下降，将与 siRNA 造成的特定目标基因的表达下降现象是一致的，将大大影响实验结果。选用低细胞毒性的转染试剂对 RNAi 研究很重要，因此推荐采用 POLOdeliverer 3000 进行相关实验。

Q: 是否按照产品说明书提供的核酸和转染试剂的用量就可以达到理想的转染效果？

A: 不一定，转染效率会受细胞种类，状态，密度，培养条件等多个因素影响。除了控制好上述因素外，还需要根据细胞的具体情况适当调整转染时的核酸和转染试剂的比例和用量，优化条件以达到最佳转染效果。

Q: 如何优化细胞转染条件？

A: 实验条件的优化，主要从影响因素入手，包括细胞的代数，转染前细胞密度的调整，转染浓度，检测时间等。这里需要强调的是实验对照的设定，也是一个很重要的优化实验的手段，每次实验必须有相应的对照。

Q: POLOdeliverer 3000 能用于制备稳定转染的细胞株吗？

A: 可以用于稳定转染细胞株的筛选，因为 POLOdeliverer 3000 对细胞的低毒性和较高的转染效率，有利于稳转株的筛选。可在瞬时转染后的 48-72 小时加入适当浓度的抗生素进行筛选。

Q: POLOdeliverer 3000 与市场上其他转染试剂相比有哪些优势？

A: POLOdeliverer 3000 是一种具有自主知识产权，独特配方的生物大分子转染试剂，具有转染效率高，蛋白高表达，低细胞毒性，少干扰因素等特点，此外，转染前后均不需要换液，操作简单，只需提供满足细胞正常生长必须的营养即可。



上海锐赛生物技术有限公司

Shanghai R&S Biotechnology Co., Ltd.

地址：上海市浦东新区张江高科技园区郭守敬路199号生物医药产业创新园

技术服务电话：021-64197338 58383580

试剂订购电话：021-50805522-2253

全国服务热线：13761475994

网址：www.research-bio.com

Email：Service@research-bio.com