

## OriFect 3K Transfection Reagent

(转染试剂)

### 产品信息

货号	名称	规格
CC102-0.1 mL	OriFect 3K Transfection Reagent (转染试剂)	0.1 mL
CC102-0.75 mL	OriFect 3K Transfection Reagent (转染试剂)	0.75 mL
CC102-1.5 mL	OriFect 3K Transfection Reagent (转染试剂)	1.5 mL

### 产品简介

OriFect 3K 转染试剂采用脂肪纳米微粒技术通过包裹 DNA 或 RNA 形成复合物导入到各种不同类型的贴壁和悬浮细胞内，实现多种难转染和常见细胞的高效转染，并表现出较低的细胞毒性。成功转染的细胞包括：C2C12、HuH7、HepG2、Hs578T、NCI-H460、A549、MCF7、L6 CRL-1458 等。

### 储存条件

保存于 4°C，不可冷冻。

### 产品组成

名称	OriFect 3K Transfection Reagent		
	CC102-0.1 mL	CC102-0.75 mL	CC102-1.5 mL
组分			
OriFect 3K	0.1 mL	0.75 mL	1.5 mL
Enhancer	0.1 mL	0.75 mL	1.5 mL

### 自备材料

质粒 DNA (0.5-5 μg/μL 储液) /siRNA, Opti-MEM 减血清培养基, 微量离心管。

### 用前须知

1. 在无血清培养基中制备 DNA-OriFect 3K 复合物，直接将其加入含/不含血清培养基的细胞中。
2. 转染后无需去除转染复合物或额外更换培养基。
3. OriFect 3K 试剂用量因细胞差异各有不同，建议在首次使用前按照下表推荐，测定两种不同浓度的 OriFect 3K，以确定最佳用量，保证后续实验顺利进行：

组分	96-well	24-well	6-well
DNA/孔	100 ng	500 ng	2500 ng
Enhancer	0.2 μL	1 μL	5 μL
OriFect 3K	0.15 μL; 0.3 μL	0.75 μL; 1.5 μL	3.75 μL; 7.5 μL

4. 转染 siRNA 至细胞时，可遵循上述 DNA 实验方案，但在稀释 siRNA 时不要加入 Enhancer。

### 使用说明

请使用下面步骤在 24 孔培养板进行 DNA 转染到哺乳动物细胞。其他类型培养板的使用，请查阅说明书中提供的“转染稀释比例参考表”，表中提供了对应培养板的参考用量。以下所述为单个孔每种反应混合物的加入体积，实验时按比例计算其他孔的体积：

#### 1. 接种细胞：

- a. 贴壁细胞：转染前一天，将  $0.5-2 \times 10^5$  细胞置于 500 μL 不含抗生素的生长培养基中，细胞密度控制在培养 16-24 h 后，即转染前细胞汇合度达 70%-90%。
- b. 悬浮细胞：加入 DNA-脂质体复合物之前，将  $4-8 \times 10^5$  细胞置于 500 μL 不含抗生素的生长培养基中。

#### 2. 制备脂质体-核酸复合物：

- a. 使用 25 μL Opti-MEM 培养基稀释 1 μL OriFect 3K，充分混匀，室温下备用。

b. 使用 25  $\mu\text{L}$  Opti-MEM 培养基稀释 0.5  $\mu\text{g}$  DNA, 后在稀释好的核酸溶液中添加 1  $\mu\text{L}$  Enhancer, 充分混匀, 制备成 DNA/Enhancer 混合物, 室温下备用。

c. 将 DNA/Enhancer 混合物加入到制备好的 OriFect 3K 中(总体积=50  $\mu\text{L}$ )。轻轻充分混匀, 在室温下培养 10-15 min, 使得形成脂质体-核酸复合物。

### 3. 细胞转染:

将混合好的脂质体-核酸复合物滴加进 24 孔培养板中, 每孔滴加 50  $\mu\text{L}$ , 晃动培养板, 轻轻混匀。

### 4. 观察并分析转染细胞

4-6 h 后观察转染细胞状态以决定是否更换培养基以去除转染复合物, 若细胞状态良好, 可直接在培养箱中 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育培养 2-4 天, 然后分析转染细胞。

#### 转染稀释比例参考表

若要以不同培养形式转染细胞, 建议在不同培养条件下, 参考下表调整 OriFect 3K、Enhancer、核酸、细胞和培养基的用量:

Culture Plates	Surface Area ( $\text{cm}^2$ )	Plating Medium Volume	Dilution Medium Volume	DNA Transfection			siRNA Transfection	
				DNA	OriFect 3K Reagent	Enhancer	siRNA	OriFect 3K Reagent
96-well	0.3	100 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 5 $\mu\text{L}$	0.1 $\mu\text{g}$	0.15–0.3 $\mu\text{L}$	0.2 $\mu\text{L}$	3 pmol	0.3 $\mu\text{L}$
48-wel	0.7	250 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 12.5 $\mu\text{L}$	0.25 $\mu\text{g}$	0.37–0.75 $\mu\text{L}$	0.5 $\mu\text{L}$	7.5 pmol	0.75 $\mu\text{L}$
24-well	2	500 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 25 $\mu\text{L}$	0.5 $\mu\text{g}$	0.75–1.5 $\mu\text{L}$	1 $\mu\text{L}$	15 pmol	1.5 $\mu\text{L}$
12-well	4	1 mL	2 $\times$ 50 $\mu\text{L}$	1.0 $\mu\text{g}$	1.5–3.0 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	30 pmol	3.0 $\mu\text{L}$
6-well	10	2 mL	2 $\times$ 125 $\mu\text{L}$	2.5 $\mu\text{g}$	3.75–7.5 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	75 pmol	7.5 $\mu\text{L}$
60 mm	20.0	5 mL	2 $\times$ 250 $\mu\text{L}$	5.5–11 $\mu\text{g}$	8.25–16.5 $\mu\text{L}$	11–22 $\mu\text{L}$	166 pmol	17 $\mu\text{L}$

#### 数据展示

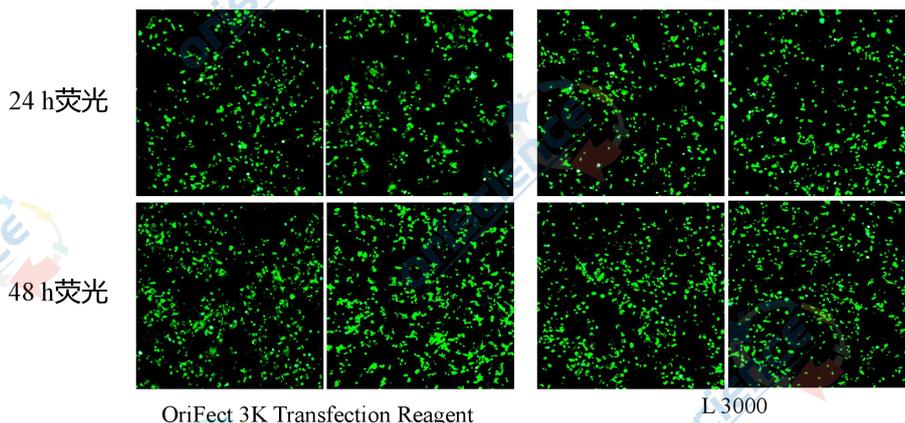


图 A. OriFect 3K 与 T 公司 L3000 用 EGFP 表达质粒分别转染 A549 细胞。

#### 注意事项

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。

## 常见问题及解决方法

问题	分析	解决方法
转染效率偏低	细胞本身状态不佳	使用适度传代且为对数生长期的细胞
	OriFect 3K 浓度太高, 造成细胞毒性	降低 OriFect 3K 的用量
	OriFect 3K 和 DNA 的比例未优化	预实验, 确定 OriFect 3K 和 DNA 的比例
	转染体系不对	设立阳性对照, 如转染 GFP 基因, 检验转染体系
	DNA 质量低, 有降解或含有内毒素	使用纯化后且 OD260/280 $\geq$ 1.8 的 DNA
	转染复合物中含有血清	使用无血清培养基
	支原体污染	定期检查细胞中是否有支原体污染
转染后细胞状态差	转染试剂用量偏多, 造成细胞毒性	减少转染试剂用量, 更换为正常含血清培养基
	转染时细胞汇合度偏低	使用对数生长期的细胞, 转染时细胞汇合度达 60%-80%
	DNA 未纯化, 含有内毒素	使用纯化后且 OD260/280 $\geq$ 1.8 的 DNA
	细胞株对转染试剂较敏感或转染后培养时间过长	加入转染复合物 6-8 h 后, 及时更换培养基
	基因的产物毒性	验证基因产物是否有毒
	转染复合物加入培养基后分布不均, 局部转染复合物浓度过高, 细胞毒性偏高	加入转染复合物后, 轻晃匀或轻用手指敲孔板一侧使其分布均匀
	细胞状态不佳。传代次数太少, 细胞未恢复正常状态; 或传代次数过多, 细胞老化	使用适度传代的细胞, 保证使用的细胞状态正常; 减少代次差异对实验结果的影响

Oriscience Biotechnology Co., Ltd.

[www.oriscience.com](http://www.oriscience.com)

Tel: 400-158-2128

 Emails: [order@oriscience.com](mailto:order@oriscience.com)
[technical\\_support@oriscience.com](mailto:technical_support@oriscience.com)
