

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	KEL-DR Transfection Reagent	1.5ml	体外转染 DNA 质粒或 RNA
KC127-1.5	KEL-R Transfection Reagent	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 μ L 含抗生素的培养基中，转染时细胞长至 50%融合最佳。
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 μ L 无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加 2 μ 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 μ L 无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加 0.5 μ 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。
3. 在每孔细胞中加入 100 μ 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°C 培养 24-72 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 500 μ L 含抗生素的培养基中，转染时细胞长至 60%~80% 融合最佳。
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 50 μ L 无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加 2 μ 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 μ L 无血清培养基或 OPTI-MEM，并添加 2 μ L 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：siRNA 一般推荐 20 μ M 浓度保存，2 μ L 总量是 40 pmol。
3. 在每孔细胞中加入 100 μ L 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°C 培养 24-72 小时检测 mRNA 表达，48-96 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 ²	100 μ L	2 \times 10 μ L	20 pmol	1 μ L	0.2 μ g	0.8 μ L
24 孔板	2.0cm ²	500 μ L	2 \times 50 μ L	40 pmol	2 μ L	0.5 μ g	2 μ L
12 孔板	4.0cm ²	1mL	2 \times 100 μ L	80 pmol	4 μ L	1.5 μ g	4 μ L
6 孔板	10.0cm ²	2mL	2 \times 200 μ L	150 pmol	7.5 μ L	2.5 μ g	7.5 μ L
60mm	20.0cm ²	5mL	2 \times 0.5mL	300 pmol	15 μ L	6 μ g	15 μ L
10cm	60.0cm ²	15mL	2 \times 1mL	600 pmol	30 μ L	12 μ g	30 μ L

5. 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（OD _{260/280} >1.8） 3. 应使用不含内毒素的质粒
细胞生长状态	建议保证细胞形态和密度是最佳的
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。