MesPoly™ Transfection Reagent

Transfection Grade

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

MESGEN™ INNOVATION BIOTECHNOLOGY

Catalog Number : MTP2500S

Packaging Size : 1.5ml ☐ 5×1.5ml ☐

产品概述

MesPoly™ 是基于线性聚乙烯亚胺的一种新型阳离子聚合物，它通过正负电荷作用与核酸形成复合物，并使该复合物进入哺乳动物细胞。MesPoly™ 转染试剂广泛适用于常见细胞系，如 HEK-293、HEK293T、 Hep G2、Hela、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3 和 Sf9 等。该试剂即使在有血清存在的情况下，它仍然能高效的将核酸导入细胞。

MesPoly特点

※ 优越的转染效率 ※ 重组蛋白的高表达水平 ※ 与含血清的培养基相兼容 ※ 低细胞毒性，易于操作

A 瞬时转染方法:

一. 接种细胞， 转染前一天，用胰酶溶液消化细胞并计数。调整细胞浓度，将细胞铺入细胞培养的器皿，每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到 70~80%。

二. 准备 DNA-MesPoly 复合物，DNA、MesPoly 试剂和稀释剂在进行以下步骤前需先使其升至室温。用 Opti-MEM I™（Invitrogen）或其他适合的无蛋白培养基 MesTransfect™ Reduced Serum Medium（MesGen）稀释适量 DNA。用上述培养基稀释 MesPoly。每 1 μg DNA 需用 2-5 μL 转染试剂。一边轻轻涡旋装有 DNA 溶液的试管，一边将稀释的转染试剂滴加至试管中（请勿颠倒添加顺序）。充分混匀后，室温静置 10~25 min 以形成 DNA-MesPoly 复合物。当溶液体积较大时，请用圆底聚丙烯管，例如 5 mL /14 mL 离心管。

三. 转染细胞，直接向每个孔中加入 DNA-MesPoly 复合物并轻轻涡旋培养板 / 培养皿。在无血清条件下转染时，去除生长培养基，替换成无血清培养基，然后滴 DNA-MesPoly 复合物。转染 3 h 后，添加 1/2 体积的包含 30%血清的生长培养基。

四. 孵育细胞和分析结果，在 CO_2 培养箱中 37℃下孵育细胞至可以分析检测。转染后最快 7 h 即可检测到转入基因的表达。 请自行确定最适合检测时间。

B 稳定转染方法:

一. 接种细胞，转染前一天，用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度，将细胞铺入细胞培养的器皿，每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到 70~80%。

二. 准备 DNA-MesPoly 复合物：DNA、MesPoly 试剂和稀释剂在进行以下步骤前需先使其升至室温。用 Opti-MEM I™（Invitrogen）或其他适合的无蛋白培养基 MesTransfect Reduced Serum Medium（MesGen）稀释适量 DNA。用上述培养基稀释转染试剂。每 1 μg DNA 需用 2-5 μL 转染试剂。一边轻轻涡旋装有 DNA 溶液的试管，一边将稀释的转染试剂滴加至试管中（请勿颠倒添加顺序）。充分混匀后，室温静置 10~25 min 以形成 DNA-MesPoly 复合物。当溶液体积较大时，请用圆底聚丙烯管，例如 5 mL /14 mL 离心管。

三. 转染细胞，直接向每个孔中加入 DNA-MesPoly 复合物并轻轻涡旋培养板/培养皿。在无血清条件下转染时，去除生长培养基，替换成无血清培养基，然后滴 DNA-MesPoly 复合物。转染 3 h 后，添加 1/2 体积的包含 30%血清的生长培养基。

四. 孵育细胞和分析结果： 在 CO_2 培养箱中 37℃下孵育细胞至可以分析检测。转染后最快 7 h 即可检测到转入基因的表达。

五. 转染 24 h 后，将细胞传代至新鲜的生长培养基中（将细胞稀释 10 倍以上），在 CO_2 培养箱中 37℃孵育过夜。第二天加入与转染抗性基因相匹配的筛选药物。约 1~2 周可筛选到耐药性克隆，在这期间需经常更换含筛选药物的生长培养基。

特别提醒

一. 对于某些类型的细胞如 HEK-293、HEK293T、NIH/3T3 和 COS 细胞，在转染前两天铺板可显著提高转入基因的表达水平。如果选择转染前两天铺板，可适当降低铺板密度，以确保转染时细胞的汇合度仍为 70~80%。

二．对于接触抑制敏感的细胞，可适当降低铺板密度。

三． 即使在有蛋白（如 10%的血清）存在的情况下，DNA-MesPoly 复合物仍能转染细胞，但是 DNA-MesPoly 复合物必须在无蛋白存在的条件下形成。我们推荐使用 Opti-MEM I™ 培养基以达到最佳转染效率。其他的无蛋白培养基则需测试与 MesPoly™ 转染试剂的兼容性。

四．对大多数种类的细胞而言，每 1ug 使用 3.0ul MesPoly™ transfection reagent 转染试剂都能获得较高转染效率。使用者也可尝试每 1 ugDNA 使用 1~4 ul 体积转染试剂进行优化。

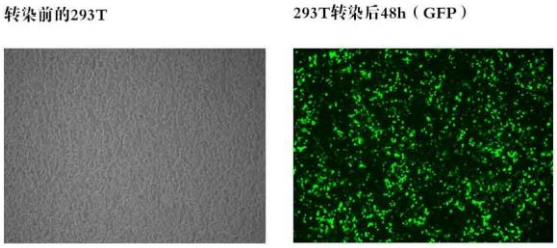
参考用量

细胞培养容器	表面积	稀释液体积	DNA 的量	MesPoly 溶液的量	培养基总量
96-well	0.3cm2	10uL	0.1ug	0.1uL	100uL
48-well	0.7cm2	20uL	0.2ug	0.3uL	200uL
24-well	1.9cm2	50uL	0.5ug	1uL	500uL
12-well	3.8cm2	50uL	1ug	2uL	1mL
6-well/35mmdish	10cm2	100uL	2ug	4uL	2mL
60mm dish/T25flask	21cm2	200uL	4ug	8uL	4mL
100mmdish/T75flask	58cm2	500uL	10ug	20uL	10mL

质量控制

每批次 MesPoly 转染试剂均经过转染测试。将 eGFP 表达质粒用转染试剂转入亚融合状态的 293T 细胞，转染 16 h 后，超过 95% 的细胞表达 eGFP。

转染案例：



注意事项

一．质粒质量，请务必使用高质量转染级无内毒素质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度，260 nm / 280 nm 比值确定 DNA 纯度（比值应该在 1.8~2.0 的范围之内）。如有可能，请通过琼脂糖凝胶电泳检测质粒的完整性。

二．细胞条件，使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保培养基没有被细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞，请在转染前至少传代两次。建议使用 GIBCO 公司血清培养细胞。

保存条件

2-8° C

参考文献

1. Polyethylenimine (PEI), linear (1 mg/mL). Cold Spring Harbor Protocols 2008, pdb.rec11323– pdb.rec11323 (2008). doi:10.1101/pdb.rec11323

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.

MesGen Biotechnology **Tel : 86-21-56620378** | **China (mainland)**
tech@mesgenbio.com | **www.mesgenbio.com**