

Omifection

(质粒 DNA 转染试剂)

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
Omc-01	Omifection	1 mL	4 °C 2 年
	说明书	1 份	

一、运输与存储条件

本产品常温运输，4 °C 保存、严禁冻存。

二、注意事项（请使用试剂盒前阅读此注意事项）

1. 请利用对数生长期的细胞做质粒 DNA 转染实验，一般在细胞传代后 24-36 h，开始转染质粒 DNA，可以提高转染效率。
2. 细胞密度对转染效率也具有很大的影响，请选择汇合度为 50-80% 的对数生长期细胞进行质粒 DNA 转染实验，可以取得较高的转染效率。细胞密度过高或过低则降低转染效率。
3. 质粒 DNA 的质量直接影响转染效率。建议选择高纯度的质粒 DNA（OD_{260/280} 在 1.7~1.9 之间）进行细胞转染实验，质粒 DNA 浓度建议在 0.2 μg/μl 以上。
4. 质粒 DNA 与 Omifection 混合后孵育时间不宜太短，建议 15-30 min（30 min 转染效果会更好），以免转染复合体形成减少，降低转染效率。
5. Omifection 在大多数细胞系和原代细胞中没有明显的细胞毒性，转染后可以不换培养液，或 24 h 后再置换培养液。
6. 悬浮细胞转染质粒 DNA 时，请转染 24 h 后换液，使转染复合体能够完全被细胞吞噬。
7. 转染 12 h 后，质粒携带的外源基因（如 GFP）开始表达，24 h 后表达 50-70%，48 h 后表达量达到顶峰。更换新鲜的培养液可以刺激外源基因的表达。因此，检测外源基因表达水平时，请在 48 h 后观察，或收集细胞检测，可以得到较好的实验结果。
8. 本试剂 4 °C 保存，严禁冻存。冻存后严重降低试剂的转染效率，甚至导致试剂完全失效。

三、产品简介

Omifection 是一款非脂质体类真核细胞 DNA 转染试剂，主要用于质粒 DNA 转染，在多种细胞中都具有较高的转染效率和超低的细胞毒性，广泛用于蛋白表达、文库筛选和慢病毒包装等实验。

四、特点与优势

1. 转染效率高。在多种细胞中能够高效介导质粒 DNA 的转染和外源基因的表达。
2. 细胞毒性低。Omifection 对大多数细胞系和原代细胞没有毒性，转染后可以不更换细胞培养液。
3. 操作方便。本产品不受抗生素和血清的影响，转染前细胞不用换液。

五、使用说明

以 6 孔细胞培养板培养的贴壁细胞作为实验体系，细胞转染实验步骤如下：

1. 细胞培养。胰酶消化法收集细胞，计数后接种到 6 孔板中，24 h 后细胞密度达到 50%-80%。
2. 转染复合体制备。移取 200 μL OPTI-MEM 培养液 (Gibco) 加入灭菌的 EP 管 (1.5 mL) 中，再依次加入 2 μg 质粒 (质粒体积依据质粒浓度计算) 和 6 μL Omifection 转染试剂，混合 10-20 次，室温静置 15-30 min (30 min 转染效果会更好)，形成转染复合体。
3. 细胞转染。将转染复合体加入细胞培养液中，轻摇混匀，转入 CO_2 培养箱中继续培养。
4. 转染 12-24 h 后换液，48 h 检测外源蛋白表达情况 (如荧光显微镜下检测 GFP 荧光)。

表 1. DNA、Omifection 与 OPTI-MEM 用量表

培养板	DNA量 (μg)	Omifection 用量 (μL)	OPTI-MEM用量 (μL)
24 孔板	0.5	1.5	100
6 孔板	2	6	200
Φ 35 mm 培养皿	2	6	200
Φ 60 mm 培养皿	4	12	400
T25 细胞培养瓶	5	15	500

六、转染效果检测

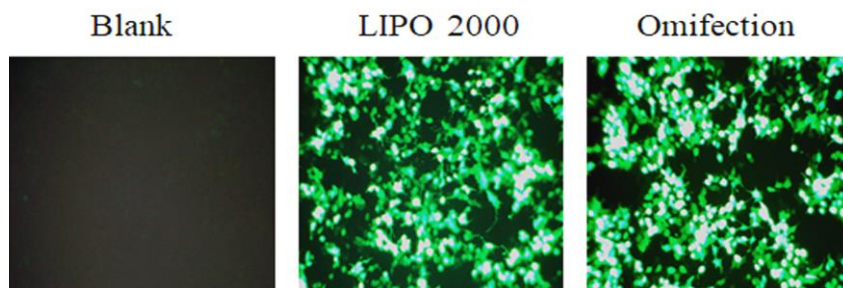


图 1. 绿色荧光蛋白 (GFP) 表达效果检测 (100 \times)

HEK293 细胞接种于 6 孔板，24 h 后利用 Omifection 和 Lipofectamine 2000 (LIPO 2000) 转染绿色荧光蛋白 (GFP) 质粒，48 h 后荧光显微镜下检测 GFP，并拍照。

七、常见问题与分析

问题	可能原因	解决方案
转染效率低	细胞株本身转染效率较低。	提高质粒和 Omifection 的用量。
	细胞没有处于对数生长期。	细胞传代后 24-36 h 内转染。
	细胞密度过高与过低。	调整细胞接种数量，转染时后细胞密度达到 50-80%。
	质粒纯度和浓度偏低。	请使用去除蛋白污染的质粒，OD260/280 在 1.7-1.9 之间，浓度为 0.2 μg/μl 以上。
	质粒用量较少。	请参考说明书中的质粒 DNA 用量，每孔细胞转染的质粒 DNA 用量不可少于最低用量。
	目的基因未完全表达。	转染 24 h 后外源基因开始表达，48 h 后达到高峰，选取转染后 48 h 检测目的基因表达，效果较好。
	转染复合体形成时间偏短。	质粒 DNA 与 Omifection 剧烈混合后，室温静置 30 min，保证转染复合体充分形成，且加入细胞培养液前禁止再混匀，以免破坏转染复合体。
	质粒 DNA 与 Omifection 未按规定比例混合。	请按照质粒 DNA: Omifection = 1μg: 3 μl 的比例混合，Omifection 的用量减少，则转染效率降低。
细胞毒性大	特定细胞株对 Omifection 敏感。	减少 Omifection 用量，转染后 6 h 换液。
	细胞密度偏低。	增加接种细胞密度，转染是细胞密度达到 50% 以上。
	质粒纯度较低。	使用高纯质粒提取试剂盒提取质粒，增加质粒纯度。
	细胞状态较差。	提高细胞状态，或更换细胞。
	Omifection 用量较大。	请按表格规定用量使用 Omifection。