



GeticoFect™ HQ 转染试剂在多种细胞内转染使用说明书

一、通用准备工作

1. 试剂与耗材

- GeticoFect HQ 转染试剂 (含 HQ-ER 增强剂)
- 无血清培养基 (如 Opti-MEM 或 DMEM/F12)
- Endotoxin-free 质粒 DNA (浓度 $\geq 0.5 \mu\text{g}/\mu\text{L}$, OD260/280=1.8-2.0)
- 完全培养基 (根据细胞类型选择, 含 10% FBS 和抗生素)
- 12 孔 / 24 孔细胞培养板、无菌 EP 管、移液器

2. 细胞状态要求

- 所有细胞需处于对数生长期, 存活率 > 90%
- 转染前 1 天传代, 接种密度见各细胞系具体要求
- 避免使用超过推荐传代次数的细胞 (如原代细胞 < 5 代)

3. 包括的细胞系操作说明

- GeticoFect™ HQ 试剂专为实现高效率、低毒性的质粒转染而精心设计, 适用于多种悬浮细胞, 以及多种难转染的细胞。
- 本说明书包括了以下已测试的细胞系使用说明: THP1, SKBr-3, RAW264.7, Primary Mouse Neural Progenitor, PC12, NHFF, NIH3T3, MCF-7, LNCap, K562, Jurkat, IMR-90, HUVEC, HT-1080, HL-60, Hep G2, Hela S3, HCT-116, Grip Tite 293MSR, CHO-K1, COS-7, Caco-2, C6, THP-1, ACHN, ARPE-19 等多种细胞系。



二、各细胞系转染操作流程

1. THP-1 细胞（人单核细胞白血病细胞）

转染前准备：

- 培养基：RPMI 1640 + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 1×10^6 cells / 孔（12 孔板），转染时细胞密度 50%-60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：2 μ g 质粒 DNA + 100 μ L Opti-MEM
 - B 液：4 μ L GeticoFect HQ + 2 μ L HQ-ER + 100 μ L Opti-MEM
 - 分别孵育 5 分钟后混合，室温静置 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 1 mL 新鲜完全培养基
 - 将复合物逐滴加入，轻轻晃动培养板
 - 37°C 孵育 4-6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48-72 小时检测基因表达



2. MCF-7 细胞（人乳腺癌细胞）

转染前准备：

- 培养基：DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 5×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 70%-80%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：0.8 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合后孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜完全培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



3. RAW264.7 细胞 (小鼠巨噬细胞)

转染前准备:

- 培养基: DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度: 3×10^5 cells / 孔 (12 孔板), 转染时细胞密度 50%

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔):
 - A 液: 1.5 μ g 质粒 DNA + 100 μ L Opti-MEM
 - B 液: 3 μ L GeticoFect HQ + 1.5 μ L HQ-ER + 100 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 细胞更换为 1 mL 新鲜完全培养基
 - 加入复合物, 孵育 4 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 24-48 小时检测



4. 原代小鼠神经祖细胞

转染前准备：

- 培养基： Neurobasal 培养基 + B27 + GlutaMAX
- 接种密度： 2×10^5 cells / 孔 (24 孔板) ， 转染时细胞密度 60%

转染步骤：

1. 复合物配制 (每孔) :
 - A 液： 0.5 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液： 1.5 μ L GeticoFect HQ + 0.5 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物， 孵育 4 小时后更换培养基
3. 检测时间： 转染后 72 小时检测



5. PC12 细胞（大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞）

转染前准备：

- 培养基：RPMI 1640 + 10% FBS + 5% HS + 1% P/S
- 接种密度： 3×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 50%-60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：0.8 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



6. NHFF 细胞（正常人类包皮成纤维细胞）

转染前准备：

- 培养基：DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 8×10^4 cells / 孔（12 孔板），转染时细胞密度 70%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：2 μ g 质粒 DNA + 100 μ L Opti-MEM
 - B 液：4 μ L GeticoFect HQ + 2 μ L HQ-ER + 100 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 1 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 4 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48-72 小时检测



7. NIH/3T3 细胞 (小鼠胚胎成纤维细胞)

转染前准备:

- 培养基: DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度: 5×10^4 cells / 孔 (24 孔板), 转染时细胞密度 60%

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔):
 - A 液: 0.8 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液: 2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物, 孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 48 小时检测



8. SKBR-3 细胞（人乳腺癌细胞）

转染前准备：

- 培养基：McCoy's 5A + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 5×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 70%-80%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



9. LNCaP 细胞（人前列腺癌细胞）

转染前准备：

- 培养基：RPMI 1640 + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 5×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 70%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48-72 小时检测



10. K562 细胞（人慢性髓性白血病细胞）

转染前准备：

- 培养基：RPMI 1640 + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 1×10^6 cells/mL（24 孔板，1 mL / 孔）

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：2 μ g 质粒 DNA + 100 μ L Opti-MEM
 - B 液：5 μ L GeticoFect HQ + 2 μ L HQ-ER + 100 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 将细胞离心（1200 rpm，5 分钟），重悬于 1 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，轻轻混匀
 - 孵育 24 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48-72 小时检测



11. Jurkat 细胞 (人 T 淋巴细胞白血病细胞)

转染前准备:

- 培养基: RPMI 1640 + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度: 1×10^6 cells/mL (24 孔板, 1 mL / 孔)

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔) :
 - A 液: 2 μ g 质粒 DNA + 100 μ L Opti-MEM
 - B 液: 5 μ L GeticoFect HQ + 2 μ L HQ-ER + 100 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 将细胞离心 (1200 rpm, 5 分钟), 重悬于 1 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物, 轻轻混匀
 - 孵育 24 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 48 小时检测



12. IMR-90 细胞（人肺成纤维细胞）

转染前准备：

- 培养基：MEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 4×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 70%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：0.8 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



13. HUVEC 细胞 (人脐静脉内皮细胞)

转染前准备:

- 培养基: EGM-2 内皮细胞培养基
- 接种密度: 5×10^4 cells / 孔 (24 孔板), 转染时细胞密度 70%

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔):
 - A 液: 0.8 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液: 2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物, 孵育 4 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 48 小时检测



14. HT-1080 细胞（人纤维肉瘤细胞）

转染前准备：

- 培养基：DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 4×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



15. HL-60 细胞（人早幼粒白血病细胞）

转染前准备：

- 培养基：RPMI 1640 + 20% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 1×10^6 cells/mL（24 孔板，1 mL / 孔）

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：2 μ g 质粒 DNA + 100 μ L Opti-MEM
 - B 液：5 μ L GeticoFect HQ + 2 μ L HQ-ER + 100 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 将细胞离心（1200 rpm，5 分钟），重悬于 1 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，轻轻混匀
 - 孵育 24 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48-72 小时检测



16. HepG2 细胞 (人肝癌细胞)

转染前准备:

- 培养基: DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度: 5×10^4 cells / 孔 (24 孔板), 转染时细胞密度 70%

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔):
 - A 液: 1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液: 2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物, 孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 48-72 小时检测



17. HeLa S3 细胞 (人宫颈癌细胞)

转染前准备:

- 培养基: DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度: 5×10^4 cells / 孔 (24 孔板), 转染时细胞密度 70%

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔):
 - A 液: 1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液: 2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物, 孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 48 小时检测



18. HCT-116 细胞 (人结肠癌细胞)

转染前准备:

- 培养基: McCoy's 5A + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度: 4×10^4 cells / 孔 (24 孔板), 转染时细胞密度 60%-70%

转染步骤:

1. 复合物配制 (每孔):
 - A 液: 1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液: 2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作:
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物, 孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间: 转染后 48 小时检测



19. GripTite 293 MSR 细胞（人胚肾细胞）

转染前准备：

- 培养基：DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 5×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 70%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



20. COS-7 细胞（非洲绿猴肾细胞）

转染前准备：

- 培养基：DMEM + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 4×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 48 小时检测



21. CHO-K1 细胞（中国仓鼠卵巢细胞）

转染前准备：

- 培养基： F-12K + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 4×10^4 cells / 孔（24 孔板）， 转染时细胞密度 60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液： 1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液： 2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物， 孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间： 转染后 48-72 小时检测



22. Caco-2 细胞（人结直肠腺癌细胞）

转染前准备：

- 培养基：DMEM + 20% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 5×10^4 cells / 孔（24 孔板），转染时细胞密度 50%-60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液：1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液：3 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物，孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间：转染后 72 小时检测



23. C6 细胞（大鼠胶质瘤细胞）

转染前准备：

- 培养基： F-12K + 10% FBS + 1% P/S
- 接种密度： 4×10^4 cells / 孔（24 孔板）， 转染时细胞密度 60%

转染步骤：

1. 复合物配制（每孔）：
 - A 液： 1 μ g 质粒 DNA + 50 μ L Opti-MEM
 - B 液： 2.5 μ L GeticoFect HQ + 1 μ L HQ-ER + 50 μ L Opti-MEM
 - 混合孵育 20 分钟
2. 转染操作：
 - 细胞更换为 0.5 mL 新鲜培养基
 - 加入复合物， 孵育 6 小时后更换培养基
3. 检测时间： 转染后 48 小时检测

三、优化建议与注意事项

1. DNA 质量控制：
 - 使用无内毒素的质粒 DNA（如 EndoFree Maxi Kit 提取）
 - 浓度 $\geq 0.5 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ ，OD260/280 比值在 1.8-2.0 之间
2. 试剂使用技巧：
 - GeticoFect HQ 与 HQ-ER 需在使用前恢复至室温
 - 避免反复冻融，分装保存于 -20°C
 - 用前轻轻颠倒混匀，勿剧烈涡旋
3. 细胞健康状态：
 - 细胞汇合度对转染效率影响显著，需严格按各细胞系推荐密度接种
 - 传代次数：原代细胞 < 5 代，细胞系 < 20 代
4. 毒性控制：
 - 若出现细胞毒性，可尝试：
 - 减少转染试剂用量
 - 缩短复合物孵育时间（如 15 分钟）
 - 增加换液频率（转染后 4 小时首次换液）
5. 转染条件优化：
 - 建议进行剂量梯度实验（如 DNA: 试剂比例从 1:1 到 1:5）
 - 对于难转染细胞（如原代细胞），可尝试：
 - 增加 HQ-ER 增强剂比例（如 DNA:HQ-ER=1:2）
 - 延长转染时间（如孵育 8-12 小时）
6. 对照设置：
 - 阳性对照：转染 EGFP 表达质粒，通过荧光显微镜评估转染效率
 - 阴性对照：未转染细胞，检测背景信号



四、结果检测方法

1. 荧光显微镜：若转染报告基因（如 GFP、RFP），转染后 24-48 小时直接观察
2. 流式细胞术：定量分析转染效率（建议转染后 48 小时检测）
3. Western Blot：检测目的蛋白表达水平（转染后 48-72 小时）
4. qRT-PCR：检测 mRNA 表达水平（转染后 24 小时）