

## GeticoFect™ 3000plus 在多种肿瘤细胞系中操作说明书

### 一、细胞系列表

序号	英文名称	中文名称	页码	转染效率 (%)
1	HS-578T	人乳腺癌细胞 HS-578T	Page 2	75
2	JC	人结直肠腺癌细胞 JC	Page 3	65
3	MCF10A	人正常乳腺上皮细胞 MCF10A	Page 4	50
4	MCF7	人乳腺癌细胞 MCF7	Page 5	78
5	MDA-MB-231	人乳腺癌细胞 MDA-MB-231	Page 6	85
6	MDA-MB-453	人乳腺癌细胞 MDA-MB-453	Page 7	68
7	MDA-MB-468	人乳腺癌细胞 MDA-MB-468	Page 8	72
8	SK-BR-3	人乳腺癌细胞 SK-BR-3	Page 9	88
9	Hep 3B2.1-7	人肝癌细胞 Hep 3B2.1-7	Page 10	65
10	HepG2	人肝癌细胞 HepG2	Page 11	90
11	Hepa 1-6	小鼠肝癌细胞 Hepa 1-6	Page 12	70
12	A549	人肺癌细胞 A549	Page 13	92
13	Calu-1	人肺癌细胞 Calu-1	Page 14	75
14	Calu-3	人肺癌细胞 Calu-3	Page 15	65
15	Calu-6	人肺癌细胞 Calu-6	Page 16	80
16	D17	犬骨肉瘤细胞 D17	Page 17	55
17	GCT	人精原细胞瘤细胞 GCT	Page 18	60
18	HCC-827	人肺癌细胞 HCC-827	Page 19	85
19	LLC1	小鼠肺癌细胞 LLC1	Page 20	70
20	MOR	人肺癌细胞 MOR	Page 21	50
21	NCI-H1299	人肺癌细胞 NCI-H1299	Page 22	88
22	NCI-H1975	人肺癌细胞 NCI-H1975	Page 23	75
23	NCI-H23	人肺癌细胞 NCI-H23	Page 24	70
24	NCI-H292	人肺癌细胞 NCI-H292	Page 25	65
25	NCI-H358	人肺癌细胞 NCI-H358	Page 26	85
26	NCI-H441	人肺癌细胞 NCI-H441	Page 27	78
27	NCI-H460	人肺癌细胞 NCI-H460	Page 28	90
28	NCI-H520	人肺癌细胞 NCI-H520	Page 29	60
29	NCI-H522	人肺癌细胞 NCI-H522	Page 30	75
30	NCI-H1650	人肺癌细胞 NCI-H1650	Page 31	80
31	T84	人结直肠腺癌细胞 T84	Page 32	65
32	V79 HG04	中国仓鼠肺细胞 V79 HG04	Page 33	70
33	LNCaP	人前列腺癌细胞 LNCaP	Page 34	80

## 二、转染操作步骤

### 1. HS-578T 细胞转染操作说明书

#### 1.1 完全生长培养基

<b>成分</b>
包含谷氨酰胺添加剂和丙酮酸钠的 DMEM
10% FBS
25 mM HEPES
1X MEM 非必需氨基酸溶液

#### 1.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

#### 1.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 80%
- 24 孔板每孔接种  $9 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

#### 1.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 2. JC 细胞转染操作说明书

### 2.1 完全生长培养基

成分
含有谷氨酰胺添加剂的 DMEM
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 2.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 2.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $6.5 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 2.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

### 3. MCF10A 细胞转染操作说明书

#### 3.1 完全生长培养基

成分
Ham's F-12 营养混合物
5% 马血清
1 mM 丙酮酸钠
25 mM HEPES

#### 3.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

#### 3.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 80%
- 24 孔板每孔接种  $2 \times 10^5$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

#### 3.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5–5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 4. MCF7 细胞转染操作说明书

### 4.1 完全生长培养基

成分
含有谷氨酰胺的 DMEM
10% FBS
1.0 mM 丙酮酸钠

### 4.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 4.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $1.1 \times 10^5$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 4.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 5. MDA-MB-231 细胞转染操作说明书

### 5.1 完全生长培养基

成分
Leibovitz's L-15 培养基
10% FBS
1X 青霉素-链霉素溶液

### 5.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 5.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 5.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 6. MDA-MB-453 细胞转染操作说明书

### 6.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 6.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 6.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 6.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 7. MDA-MB-468 细胞转染操作说明书

### 7.1 完全生长培养基

成分
Leibovitz's L-15 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 7.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 7.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 7.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 8. SK-BR-3 细胞转染操作说明书

### 8.1 完全生长培养基

成分
McCoy's 5A 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 8.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 8.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $9 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 8.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合物成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect <sup>®</sup> 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	

## 9. Hep 3B2.1-7 细胞转染操作说明书

### 9.1 完全生长培养基

成分
Eagle's MEM 培养基
10% FBS
1X 非必需氨基酸溶液

### 9.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 9.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 9.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 10. HepG2 细胞转染操作说明书

### 10.1 完全生长培养基

成分
DMEM 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 10.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 10.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $1 \times 10^5$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 10.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 11. Hepa 1-6 细胞转染操作说明书

### 11.1 完全生长培养基

成分
DMEM 培养基
10% FBS
1X 青霉素-链霉素溶液

### 11.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 11.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 11.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 12. A549 细胞转染操作说明书

### 12.1 完全生长培养基

成分
F-12K 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 12.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 12.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $9 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 12.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

### 13. Calu-1 细胞转染操作说明书

#### 13.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

#### 13.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

#### 13.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

#### 13.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 14. Calu-3 细胞转染操作说明书

### 14.1 完全生长培养基

成分
DMEM 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 14.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 14.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $1 \times 10^5$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 14.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 15. Calu-6 细胞转染操作说明书

### 15.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 15.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 15.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 15.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 16. D17 细胞转染操作说明书

### 16.1 完全生长培养基

成分
McCoy's 5A 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 16.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 16.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $9 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 16.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 17. GCT 细胞转染操作说明书

### 17.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 17.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 17.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 17.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 18. HCC-827 细胞转染操作说明书

### 18.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 18.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 18.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 18.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 19. LLC1 细胞转染操作说明书

### 19.1 完全生长培养基

成分
DMEM 培养基
10% FBS
1X 青霉素 - 链霉素溶液

### 19.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 19.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $1 \times 10^5$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 19.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.5 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA (0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.5 $\mu$ L
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 20. MOR 细胞转染操作说明书

### 20.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 20.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 20.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 20.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 21. NCI-H1299 细胞转染操作说明书

### 21.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 21.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
  - 使用 TrypLE 解离试剂
  - 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 21.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 21.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 22. NCI-H1975 细胞转染操作说明书

### 22.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 22.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 22.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 22.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 23. NCI-H23 细胞转染操作说明书

### 23.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 23.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 23.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 23.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 24. NCI-H292 细胞转染操作说明书

### 24.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 24.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 24.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 24.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 25. NCI-H358 细胞转染操作说明书

### 25.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 25.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
  - 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 25.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 25.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 26. NCI-H441 细胞转染操作说明书

### 26.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 26.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 26.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 26.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 27. NCI-H460 细胞转染操作说明书

### 27.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 27.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 27.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 27.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 28. NCI-H520 细胞转染操作说明书

### 28.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 28.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 28.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 28.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		GeticoFect? 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
2	管 2	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 29. NCI-H522 细胞转染操作说明书

### 29.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 29.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 29.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 29.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

### 30. NCI-H1650 细胞转染操作说明书

#### 30.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

#### 30.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

#### 30.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

#### 30.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

### 31. T84 细胞转染操作说明书

#### 31.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

#### 31.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

#### 31.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

#### 31.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

## 32. V79 HG04 细胞转染操作说明书

### 32.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

### 32.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
  - 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

### 32.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 60%
- 24 孔板每孔接种  $8 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

### 32.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1.25 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	500 ng
		T3000 试剂	1 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-

### 33. ZR-75-1 细胞转染操作说明书

#### 33.1 完全生长培养基

成分
RPMI 1640 培养基
10% FBS
25 mM HEPES
1.0 mM 丙酮酸钠

#### 33.2 传代

- 将细胞置于 T-75 培养瓶中维持培养
- 使用 TrypLE 解离试剂
- 每 3-4 天传代一次，确保细胞处于解冻后第 5 代至第 25 代之间

#### 33.3 接种用于转染的细胞

- 转染前一天解离汇合度 80%-90% 的细胞
- 使用标准台盼蓝拒染法计数
- 转染当天细胞活力 > 90%，汇合度 70%
- 24 孔板每孔接种  $7 \times 10^4$  个细胞 (500  $\mu$ L 培养基)

#### 33.4 转染方案 (24 孔板单孔)

步骤	管	复合成分	每孔用量
1	管 1	Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
2	管 2	GeticoFect™ 3000plus 试剂	1 $\mu$ L
		Opti-MEM I 培养基	25 $\mu$ L
		DNA	250 ng
		T3000 试剂	0.5 $\mu$ L
3	-	混合管 1 和管 2 溶液，室温孵育 10-15 分钟	-
4	-	向细胞中加入 50 $\mu$ L 复合物，轻轻涡旋平板	-