

Make a leap-forward in Biosciences

PolyShooterTM Protein Transfection Reagent

For the transfection of biologically active proteins and peptides.

Catalog Number: P19103

LeapWalTM 立谱沃生物
BIOTECH



Hunan LeapWal Biotech Co., Ltd.

Product Manual

Version 1.0

LeapWalTM Biotech 保留此产品技术文件的所有权利。未经 LeapWalTM Biotech 的书面许可，本文件的任何部分，不得改编或转载用作其他商业用途。

FOR RESEARCH USE ONLY
Not for use in diagnostic procedures

目录 Contents



| | |
|-----------|----|
| 01/产品概述 | 02 |
| 02/产品组分 | 03 |
| 03/保存条件 | 03 |
| 04/产品特点 | 03 |
| 05/适用范围 | 03 |
| 06/实验流程概要 | 04 |
| 07/实验步骤 | 04 |
| 08/注意事项 | 06 |
| 09/实验案例分析 | 07 |
| 10/其他相关产品 | 08 |

01/产品概述

蛋白质转染是将生物学上有活性的蛋白质或肽段导入活细胞，通过替换体内具有缺陷或缺失的蛋白而发挥治疗作用的新型手段。与传统小分子化合物药物相比，蛋白质药物具有更强的特异性和效用，在低浓度时就可以表现出高特异性和高活性。此外，在活细胞内递送蛋白质能够获得比基因转染更迅速的蛋白表达，是核酸转染的替代方式，可作为一种功能强大的研究方法或治疗策略，广泛应用于生命科学领域。

基于肽转导结构域（PTD）的技术已成功开发用于蛋白质的胞内转染。然而，这些 PTD 与蛋白质的相互作用较差，通常需要蛋白质和 PTD 之间形成共价连接。目前已开发出多种试剂用于蛋白质的胞内转染，如基于多肽、阳离子脂质和聚合物的转染试剂。这些转染试剂主要是通过非共价相互作用与蛋白质形成复合物，然后通过胞吞作用进入细胞，这些蛋白质复合物通常会进入内涵体中，如果不能及时从内涵体中释放，蛋白质就会在内涵体发展成为溶酶体后，在溶酶体中发生降解。因此，转染试剂应该有很强的破膜活性，从而保证转染蛋白能够从内涵体中释放进入细胞质并发挥作用。

PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 是一种基于阳离子高分子聚合物的新型蛋白转染试剂，适用于几百 Da 的小分子多肽到几百 kDa 的大分子蛋白质的转染。其原理为带正电的阳离子高分子转染试剂与蛋白质通过静电相互作用、疏水相互作用以及氢键相互作用等多种非共价相互作用的协同作用与蛋白质结合形成带正电的复合物，之后与细胞表面带负电的蛋白多糖相互作用，并通过内吞作用进入细胞。在内涵体熟化过程中，随着 pH 值的降低，阳离子高分子转染试剂与内涵体膜的相互作用增加，导致内涵体膜的破裂，从而将蛋白质释放入细胞质中发挥作用。由于转染试剂通过非共价形式与蛋白质结合形成复合物，因此不会干扰蛋白质的生物学活性。

PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 对多种常见细胞具有高水平转染效率，具有高效低毒、操作简单、重复性好等优点。另外，由于该阳离子高分子转染试剂与蛋白质是通过多种非共价相互作用协同结合蛋白质的，因此可以适用于各种理化性质的蛋白质转染。PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 可用于细胞信号传导

和凋亡检测、蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质定位和隔室穿梭等各种功能研究。

02/产品组分

| 组分 | P19103-01 | P19103-05 |
|--|-----------|--------------|
| PolyShooter TM Protein Transfection Reagent | 0.3 mL/支 | 0.3 mL x 5 支 |

03/保存条件

冰袋 (wet ice) 运输。4℃ 保存，有效期 6 个月。-30℃ 至 -10℃ 保存，有效期 12 个月，避免反复冻融。

04/产品特点

- ◇ 卓越的蛋白转染效率——针对广泛类型的细胞，均表现出卓越的蛋白质转染效率
- ◇ 蛋白活性高——与蛋白质非共价结合，递送后的蛋白和肽仍具有高生物学活性
- ◇ 细胞毒性低——作用温和，生物相容性好
- ◇ 操作简单——简单快速的实验方案，无需分离、克隆和转染基因序列；孵育后 3-12 小时内可获得稳定的蛋白转染效果
- ◇ 适用范围广——适用于各种理化性质的蛋白质转染

05/适用范围

PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 是一种基于阳离子高分子聚合物的新

型蛋白转染试剂，对多种常见细胞具有高水平转染效率，适用于几百 Da 的小分子多肽到几百 kDa 的大分子蛋白质及各种理化性质的蛋白质转染。

06/实验流程概要

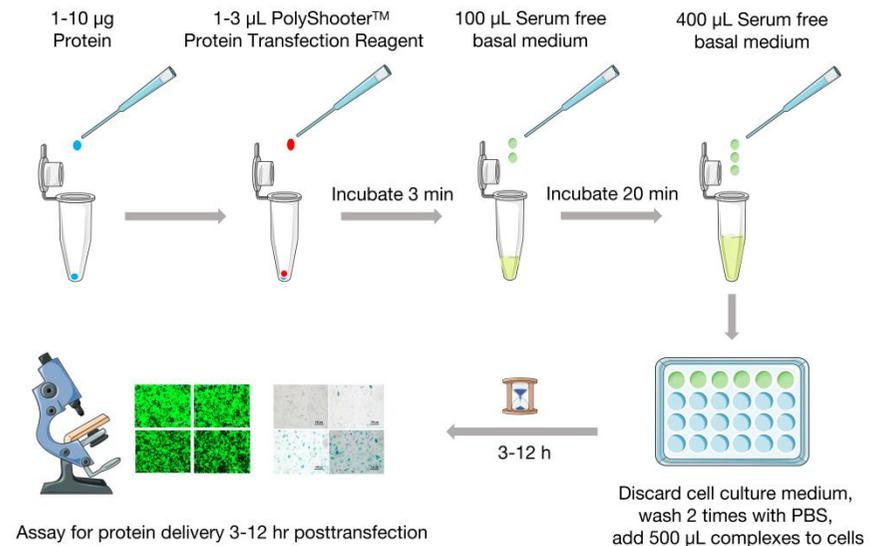


图1: PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 蛋白转染实验流程图

07/实验步骤 (以 24 孔板为例，其他培养板加样体积参考表一：转染量度标准)

1: 准备待转染细胞

- 贴壁细胞：转染前一天，将胰酶消化后的细胞按照每孔 $1-3 \times 10^5$ 个细胞的量进行

铺板，使其在转染时密度为 50%-100%。

悬浮细胞：转染当天，配制转染试剂-蛋白质复合物之前，在 24 孔板中进行细胞铺板，每 500 μL 生长培养基中加入 $2-6 \times 10^5$ 个细胞。

- 细胞状态会极大影响转染效率，待转染细胞应处于良好生长状态，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染。

2: 准备 PolyShooterTM Protein 转染试剂-蛋白质复合物

(1) 取 1-10 μg 蛋白质加入到 1.5 mL 离心管中，加入 1-3 μL PolyShooterTM Protein 转染试剂与蛋白质混合，室温孵育 3 分钟。

- 蛋白质的实际用量需根据蛋白质的类型和具体实验进行优化，不同性质的蛋白质用量相差较大，例如：荧光蛋白 EGFP 建议 24 孔板使用量为 5-10 μg ，荧光蛋白 Phycoerythrin 建议 24 孔板使用量为 0.5-2 μg ，凋亡蛋白 Saporin 建议 24 孔板使用量为 0.1-1 μg 。

- 转染试剂的用量应根据目的细胞类型、接种细胞密度、培养皿的大小进行调整，请参见表一。

(2) 往上述混合物中加入 100 μL 无血清基础培养基¹（与培养体系一致，且无血清无双抗），轻轻混匀，在室温下静置 20 分钟，形成转染试剂-蛋白质复合物。

(3) 20 分钟后，往转染试剂-蛋白质复合物中加入 400 μL 无血清基础培养基²（与培养体系一致，且无血清无双抗）稀释复合物。

3: 蛋白质转染

弃去细胞培养基，用预热的 PBS 清洗细胞 1-2 次，将上述 500 μL 转染试剂-蛋白复合物加入每孔细胞进行蛋白质转染。

4. 分析蛋白质转染效果

转染试剂-蛋白复合物与细胞孵育 3-12 小时后，可根据实际情况，用荧光检测法、流式细胞术、Western Blot、免疫荧光染色等实验方法进行后续检测及分析。

表一：转染量度标准

| 细胞培养装置 | 生长培养基 体积 (mL) | 蛋白转染试剂 (μL) | 无血清基础 培养基体积 ¹ (μL) | 无血清基础 培养基体积 ² (μL) |
|------------|---------------------|-----------------------------|--|--|
| 96 孔板 | 0.1 | 0.2-0.6 | 20 | 80 |
| 24 孔板 | 0.5 | 1-3 | 100 | 400 |
| 12 孔板 | 1 | 2-6 | 200 | 800 |
| 6 孔板 | 2 | 4-12 | 400 | 1600 |
| 60 mm 培养皿 | 4 | 8-24 | 800 | 3200 |
| 100 mm 培养皿 | 10 | 20-60 | 2000 | 8000 |

08/注意事项

1. 蛋白质质量：蛋白质中存在的杂质、污染物和添加剂都可能影响蛋白质递送效率，我们建议使用尽可能高纯度的蛋白质样品。
2. 细胞质量：细胞状态会极大影响转染效率，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染。
3. 细胞密度：建议细胞传代后 12-24 h 内、细胞密度为 50%-100% 时进行转染。不同的蛋白转染实验，对细胞密度的要求不尽相同。在进行不同蛋白质或不同细胞系的转染时，需要根据说明书再次优化实验条件。此外，在实验过程中需保证相同的接种条件，确保实验数据的可重复性。
4. 蛋白质与转染试剂用量：蛋白质的实际用量需根据蛋白质的类型和具体实验进行优化，不同性质的蛋白质用量相差较大。转染试剂的用量应根据目的细胞类型、接种细胞密度、培养皿的大小进行调整（参见表一）。想要获得最优的蛋白递送效果，需对蛋白质及转染试剂的用量进行优化，选择适合的剂量。

5. 采用无血清转染体系进行蛋白质转染可获得高效的蛋白质递送效果，这是因为血清中的血清蛋白会通过竞争结合蛋白转染试剂，从而影响转染试剂-蛋白质复合物的形成和稳定性。
6. 由于一些特殊培养基中的某些成分可能会抑制阳离子聚合物介导的转染，因此有必要检测特殊培养基与 PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 的相容性。
7. 为了您的健康安全，请规范操作，穿戴实验服与手套开展实验。
8. 本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及治疗。

09/实验案例分析

- 1: 转染前一天，将 CHO、NIH-3T3、H1299 和 HEK293 细胞分别接种于 24 孔板，使其在转染时密度约为 95%。
- 2: 按照每孔计量，取 10 μg EGFP (1mg/mL) 蛋白加入到 1.5 mL 离心管中，再分别加入 1 μL、2 μL、3 μL PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 与蛋白质混合，室温孵育 3 min。
- 3: 往混合物中加入 100 μL 无血清基础 DMEM 培养基，轻轻混匀，在室温下静置 20 min，形成转染试剂-蛋白质复合物。
- 4: 20 分钟后，往复合物中加入 400 μL 无血清基础 DMEM 培养基稀释复合物。
- 5: 弃去细胞培养基，用预热的 PBS 清洗细胞 2 次，将上述 500 μL 转染试剂-蛋白质复合物加入每孔细胞，与细胞孵育 4 小时。
- 6: 转染 4 小时后，用荧光显微镜检测 EGFP 绿色荧光蛋白转染效果，实验结果如图 2 所示。

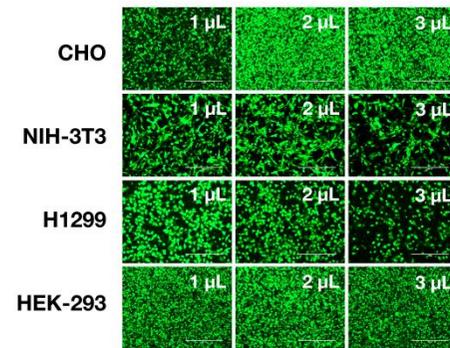


图2: 采用 PolyShooterTM Protein Transfection Reagent 转染绿色荧光蛋白 EGFP (10 μg) 4 小时后，荧光显微镜检测 EGFP 蛋白转染效果

10/其他相关产品

| 产品名称 | 货号 | 规格 |
|---|------------|------------|
| PolyShooter TM Transfection Reagent | P09110-01 | 1 mL |
| | P09110-05 | 1 mL x 5 支 |
| PolyShooter TM NEO-PEI Transfection Reagent | P09310-01 | 1 mL |
| | P09310-100 | 100 mL |
| | P09310-500 | 500 mL |
| PolyShooter TM INTERFERE Transfection Reagent | P09410-01 | 1 mL |
| | P09410-05 | 1 mL x 5 支 |