



低毒性 · 无需换液

NovaFect™

昆虫细胞转染试剂盒

适用细胞：Sf9、Sf21、High Five 等 | 适用应用：瞬时蛋白表达、杆状病毒包装 | 仅限科研用途，不用于诊断或治疗

文件编号	版本号	生效日期	页码
WD-IFU-NovaFect-INS	V1.0	2026 年 08 月 10 日	见页脚



目 录

1	产品概述	1
2	产品规格	1
3	操作方法	1
3.1	瞬时快速转染 (NovaRapid™ 昆虫细胞快速瞬时表达系统)	1
3.2	杆状病毒包装 (NovaBac™ 杆状病毒表达系统)	2
4	常见问题	4
4.1	转染效率低	4
4.2	细胞毒性高 / 大量死亡	4
4.3	表达量低 (即使转染效率正常)	4

1 产品概述

本产品包 NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂和 NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液。NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂是一种高电荷阳离子聚合物，能与带负电的 DNA、RNA 等核酸分子高效形成稳定的聚电解质复合物（polyplex）。该复合物经胞吞作用进入细胞，在内体酸化过程中通过『质子海绵效应（proton sponge effect）』使内体破裂、释放核酸至胞质。转染稀释液是经过优化过的稀释液，可以提高转染试剂和质粒形成复合物的效率。

本产品具有转染效率高、细胞毒性低、重复性好、操作简便等特点。转染后无需传统 4 小时换液步骤，可直接继续培养，节省时间并简化实验流程。

适用于：

- 昆虫细胞瞬时转染（NovaRapid™ 快速瞬时表达系统）
- 杆状病毒包装实验（NovaBac™ 杆状病毒表达系统）

① 使用提示：为获得最佳效果，建议全程采用无菌操作，并在转染前确认细胞处于良好生长状态，细胞活率高、生长稳定、无污染。

2 产品规格

产品货号	产品名称	产品包装
ITK1001S	NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	0.5 mL
	NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液	10 mL
ITK1001M	NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	1.5 mL
	NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液	25 mL
ITK1001L	NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	1.5 mL×5
	NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液	25 mL×5

3 操作方法

3.1 瞬时快速转染（NovaRapid™ 昆虫细胞快速瞬时表达系统）

根据我们的实验验证，使用本公司的 High five 细胞和 pNovaRapid 系列载体转染效率比较高。推荐使用此系统进行瞬时转染。

- 观察细胞，使用细胞计数仪或血球计数板进行计数，细胞活率需大于等于 95%，生长处于对数期（使用本司的培养基时，High five 细胞密度为 $2-5 \times 10^6$ ）
- 计算所需的体积，1100 rpm 室温离心，加入预热的新鲜的 Nova SFM™ 昆虫细胞无血清培养基（货号：IM1011S），将细胞密度调整为 $2.0 \times 10^6/\text{mL}$ 。

3. 质粒需要使用无内毒素质粒提取试剂盒提取，内毒素小于等于 0.1 EU，超螺旋率要大于等于 80%。
4. 按照下表进行配置，以 1 mL 细胞为例，将 100 μ L NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液加入灭菌的 1.5 ml 离心管中，加入 2 μ g 质粒并旋涡振荡，然后加入 8 μ L NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂并旋涡振荡，室温静置 15–20 min。中间不要晃动。

培养容器	12 孔板	6 孔板	125 ml 三角瓶
细胞悬浮液体积	1 mL	2 mL	25 mL
Nova Transfection 稀释液	100 μ L	200 μ L	5.0 mL
pNovaRapid 系列质粒	2 μ g	4 μ g	50 μ g
NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	8 μ L	16 μ L	200 μ L

5. 将上述混合液滴加至含 High five 细胞的培养基中并混匀，放入摇床中培养。
6. 48 小时收取蛋白。如下图所示，此图为转染含 EGFP 的 pNovaRapid-gfp 质粒，36 小时后荧光显微镜下观察。

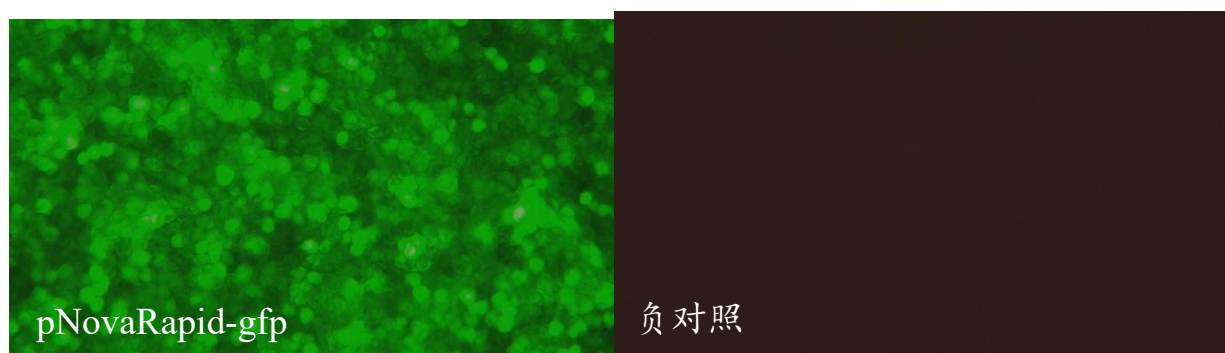


图 1. pNovaRapid-gfp 质粒使用此转染试剂转染 36 小时后观察。12 孔板，100 rpm 摇床（悬浮细胞）。

3.2 杆状病毒包装（NovaBac™ 杆状病毒表达系统）

根据本公司的实验验证，杆状病毒包装使用 Sf9 细胞，配合本转染试剂盒最佳。

1. 观察细胞，使用细胞计数仪或血球计数板进行计数，细胞活率需大于等于 95%，生长处于对数期（使用本公司的培养基时，Sf9 细胞密度为 $2-5 \times 10^6$ ）。
2. 计算所需的体积，1100 rpm 室温离心，加入新鲜的 Nova 921 SFMT™ 昆虫细胞无血清培养基（货号：IM1001S），将细胞密度调整所需密度（具体密度见下表）。

培养板或培养皿	生长面积 (cm ²)	单孔细胞数	可工作体积 (mL)	建议体积 (mL)
6 孔板	9.5	9.5×10^5	1.9 ~ 2.9	2.0
12 孔板	3.8	3.8×10^5	0.76 ~ 1.14	1.0

培养板或培养皿	生长面积 (cm ²)	单孔细胞数	可工作体积 (mL)	建议体积 (mL)
24 孔板	1.9	1.9×10^5	0.38 ~ 0.57	0.5
48 孔板	0.95	9.5×10^4	0.19 ~ 0.285	0.25
96 孔板	0.32	3.2×10^4	0.10 ~ 0.20	0.1
3.5 cm 培养皿	9	9.0×10^5	1.8 ~ 2.7	2
6 cm 培养皿	21	2.1×10^6	4.2 ~ 6.3	5
10 cm 培养皿	55	5.5×10^6	11 ~ 16.5	12
15 cm 培养皿	152	1.5×10^7	30.4 ~ 45.6	35

注意：Bacmid 转染所使用的培养板或培养皿均需要 TC 处理。

3. 以六孔板为例（转染条件请见表下表），接种 $0.8\text{--}0.95 \times 10^6$ 的 Sf9 细胞（2 mL）至六孔板中，使细胞密度能达到约 70–90%。在 27–28°C 培养至少 15 分钟，后续转染和培养液在该温度下进行。

	96-well	24-well	12-well	6-well	6 cm dish	10 cm dish
NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂稀释液	8 μL	40 μL	80 μL	200 μL	400 μL	1200 μL
Bacmid	640 ng	3.2 μg	6.4 μg	16 μg	32 μg	96 μg
NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	0.32 μL	1.6 μL	3.2 μL	8.0 μL	16.0 μL	48 μL

注意：Bacmid 的提取不建议使用柱式法提取质粒，建议使用 NovaBac™ 大质粒/Bacmid 中量提取试剂盒 (10 次) 货号：EVK3210M。

4. 取 1 个灭菌的离心管，加入 200 μL NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液，然后加入 16 μg Bacmid（建议使用 NovaBac™ 大质粒/Bacmid 中量提取试剂盒 (10 次) 货号：EVK3210M），上下颠倒混匀或用手指轻弹离心管底部，然后加入 8 μL NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂，上下颠倒混匀或用手指轻弹离心管底部，室温静置 15–20 min。
5. 将上述混合液均匀滴加到整个孔内，随后轻轻混匀。
6. 继续在 27–28°C 培养 3–5 天后，收集每孔的培养液。荧光显微镜下观察，如下图所示。
7. 室温 500 $\times$ g 离心 5 min，获得 P0 代病毒（病毒滴度通常在 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ pfu/mL）。P0 代病毒 4°C 保存，并加入胎牛血清至终浓度为 2% 以保护病毒被蛋白酶降解。P0 代病毒近期不使用时，可以适当分装后至 –80°C 长期保存。尽量避免反复冻融病毒，反复冻融病毒可能导致病毒滴度下降 10–100 倍。为获得更高病毒滴度的杆状病毒，可以使用 P0 代病毒感染 Sf9 细胞来获得 P1 代病毒（病毒滴度通常为 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ pfu/mL）。具体操作请见《NovaBac™ 杆状病毒表达系统》。

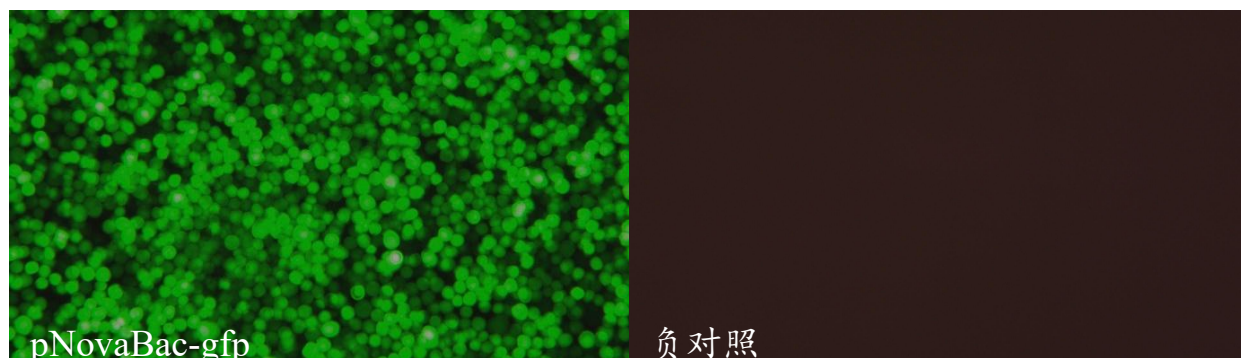


图 2. pNovaBac-gfp 质粒转染 4.5 天后，荧光显微镜下观察，六孔板贴壁培养。

4 常见问题

4.1 转染效率低

可能原因	解决方案
DNA 质量差（含内毒素或盐离子）	使用无内毒素试剂盒重新纯化；OD _{260/280} 应为 1.8–2.0
细胞汇合度过低或过高	贴壁应控制在 70–90%；悬浮密度 $1.5\text{--}2.0 \times 10^6$ cells/mL
细胞代次过高 / 状态差	复苏低代次细胞（<30 代），活力 > 95%

4.2 细胞毒性高 / 大量死亡

可能原因	解决方案
复合物孵育时间过长	≤ 20 分钟，超过 30 分钟会形成大颗粒
DNA 含内毒素	重新纯化（无内毒素试剂盒）
细胞汇合度过高 / 状态差	保持 70–90% 汇合；避免过度密集
培养基中含青霉素/链霉素	转染前/转染当日改用无抗生素培养基
复合物体积过大	复合物体积控制在终培养体积的 10% 以内

4.3 表达量低（即使转染效率正常）

可能原因	解决方案
质粒元件不匹配	确认启动子、信号肽、Kozak 序列、polyA 等
收获时间不当	做时间曲线（24 / 48 / 72 / 96 h）
蛋白被降解	添加蛋白酶抑制剂；缩短收获时间