



极速表达 · 3 天斩获取目的蛋白

NovaRapid™

快速瞬时表达系统

NovaRapid™ Insect Cell Transient Expression System

适用于研究用途

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



目 录

第一章 产品概述	1
1.1 系统简介	1
1.2 核心优势：为什么顶尖实验室都在选择 NovaRapid™?	1
1.3 系统组成	1
1.4 试剂盒内容	3
1.5 工作流程	3
第二章 实验操作流程	4
2.1 细胞培养与维持	4
2.2 质粒 DNA 的制备	6
2.3 转染操作	7
第三章 常见问题与故障排除	8
第四章 附录	9

第一章 产品概述

1.1 系统简介

在重组蛋白表达与结构生物学研究中，昆虫细胞因其优异的真核翻译后修饰能力和极高的蛋白天然活性保留率，是不可替代的“黄金宿主”。

然而，时间往往是研发中最昂贵的成本。传统的杆状病毒表达系统（BEVS）必须经历漫长的重组病毒构建、筛选、P1/P2 代扩增以及繁琐的滴度（MOI）测定。整个周期动辄 3 周以上，使得高通量（HT）靶点筛选和快速原型验证变得极其困难。

NovaRapid™ 昆虫细胞快速瞬时表达系统，正是为打破这一时间瓶颈而生。

本平台基于前沿的质粒瞬时转染技术，彻底摒弃了繁冗的重组病毒构建环节。只需将携带目的基因的 pNovaRapid 系列质粒直接转染至 High Five 细胞中，短短 48 至 72 小时内，即可收获具备完美修饰的高质量目的蛋白。从基因序列到纯化蛋白，NovaRapid™ 将漫长的等待压缩至几天之内，是您进行多靶点平行筛选、早期药筛验证以及中小试蛋白制备的理想加速器。

1.2 核心优势：为什么顶尖实验室都在选择 NovaRapid™？

与传统系统相比，NovaRapid™ 不仅是速度的飞跃，更是整体表达体验的全面升级：

✧ 极速破局，告别 3 周苦等

跳过所有病毒包装与扩增步骤。转染后 48 小时即可直接收获目的蛋白，将传统数周的实验周期压缩至短短几天，成倍提升研发推进速度。

✧ 突破性高产，比肩病毒表达

专为 High Five 细胞代谢途径深度优化，打破瞬转产量低的刻板印象。单毫升培养上清即可获得高达 80 μg 的目的蛋白；在最佳放大条件下，单升悬浮培养可轻松斩获数十毫克纯化蛋白。

✧ 极简 workflow，释放研发精力

像操作哺乳动物细胞瞬转一样简单！无需进行复杂的病毒滴度测定和感染复数（MOI）摸索，大幅降低实验技术门槛与染菌出错率。

✧ 模块化灵活组合，赋能下游应用

系统提供丰富的融合标签及强效分泌信号肽载体矩阵。无论是胞内复杂折叠还是高效分泌到上清，均能完美适配，极大简化下游的蛋白纯化与结构功能研究。

✧ 线性无缝放大，高通量（HT）筛选利器

转染体系具备极高的稳定性和重现性。从用于多靶点平行筛选的 24 孔板微量体系，到用于大规模制备的升量级悬浮摇瓶，同一套转染工艺无缝放大，无需重新摸索条件。

1.3 系统组成



021-34790199



www.weidibio.com



sales@weidibio.com



上海市闵行区江月路 999 号 3 号楼 302 室

1.3.1 pNovaRapid 系列质粒

pNovaRapid 系列载体系统为您提供了一种颠覆性的解决方案。系统核心搭载 AcNPV 来源的 hr5 增强子与 ie1 启动子强强组合，彻底打破传统限制：

- ✧ 无需病毒感染，极速出成果：直接利用昆虫细胞内源转录机器驱动表达，省去繁琐的重组病毒构建与扩增步骤。
- ✧ 告别细胞病变（CPE），护航蛋白质量：完美避开病毒复制后期的细胞凋亡与分泌途径受损，确保目标蛋白获得完美的翻译后修饰（尤其是糖基化），彻底告别蛋白降解。

这套系统不仅是一个表达载体，更是一个“重组蛋白折叠与分泌的超级工厂”。无论是复杂糖蛋白、分泌型蛋白，还是极易形成包涵体的难溶性蛋白，NovaRapid 都能为您提供量身定制的破局之法。试剂盒内含四款精心打磨的核心质粒，全方位满足您从条件优化、高效分泌到促溶折叠的苛刻需求：

载体	特征	适用场合
pNovaRapid-gfp	含 EGFP 绿色荧光蛋白	阳性对照：荧光直观打通转染体系； 融合表达：辅助蛋白定位； 纯净表达：切除 GFP 标签获取原蛋白
pNovaRapid-mel	含 Melittin 分泌信号肽	分泌蛋白，将靶蛋白直接分泌至培养基。
pNovaBac-HSP40	分子伴侣辅助载体	含 HSP40 核心伴侣蛋白，可以敏锐捕捉并保护新生或错折叠的多肽链。从源头阻断沉淀形成，大幅提升可溶性蛋白得率。与目标蛋白共转染。
pNovaRapid-HSC70	分子伴侣辅助载体	含 HSC70 伴侣蛋白，可以依托 ATP 循环系统进行反复的“结合-释放”构象重塑，是 HSP40 的“黄金搭档”，强力辅助大分子、多结构域蛋白折叠，提高蛋白活性。与目标蛋白共转染。

操作提示：关于各款质粒的图谱和使用说明，请详阅本说明书附录的【pNovaRapid 详细质粒信息】。质粒序列请至唯地官网下载。

1.3.2 NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂盒

NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂（货号：INT1001M）采用高电荷阳离子聚合物技术，专为 NovaRapid™ 快速瞬时表达系统及 NovaBac™ 杆状病毒表达系统量身打造，可在 Sf9, Sf21 和 High Five 等主流昆虫细胞中实现卓越的转染。

为简化您的实验流程，本试剂盒经过特殊配方优化，实现了相较于传统试剂（如 Cellfectin™ II）的重大性能提升：

- （1）全程免换液：具有极低细胞毒性，转染复合物加入后直接培养，无需执行繁琐的换液步骤。



021-34790199



www.weidibio.com



sales@weidibio.com



上海市闵行区江月路 999 号 3 号楼 302 室

(2) 多模式兼容：无论您采用贴壁培养还是悬浮培养，均可直接使用本产品，便于后续的生产工艺放大。

(3) 超低毒性（护细胞）：极其温和的聚合物配方，显著降低细胞毒性，让转染后的细胞保持最佳增殖状态，为后续蛋白高表达提供坚实基础。

1.3.3 昆虫细胞系

经典的 High Five (BTI-TN-5B1-4) 细胞源自粉纹夜蛾卵巢，是业界公认的高表达宿主。然而，常规通用型 High Five 细胞在更换无血清培养基时，常出现生长停滞、严重结团及转染效率骤降的“水土不服”现象。为将 NovaRapid™ 快速瞬时表达系统的性能发挥到极致，我们强烈推荐您配套使用唯地生物经过深度驯化的专属 High Five 细胞系及配套无血清培养基。这种“细胞+培养基”的原装生态组合，具备以下不可替代的优势：

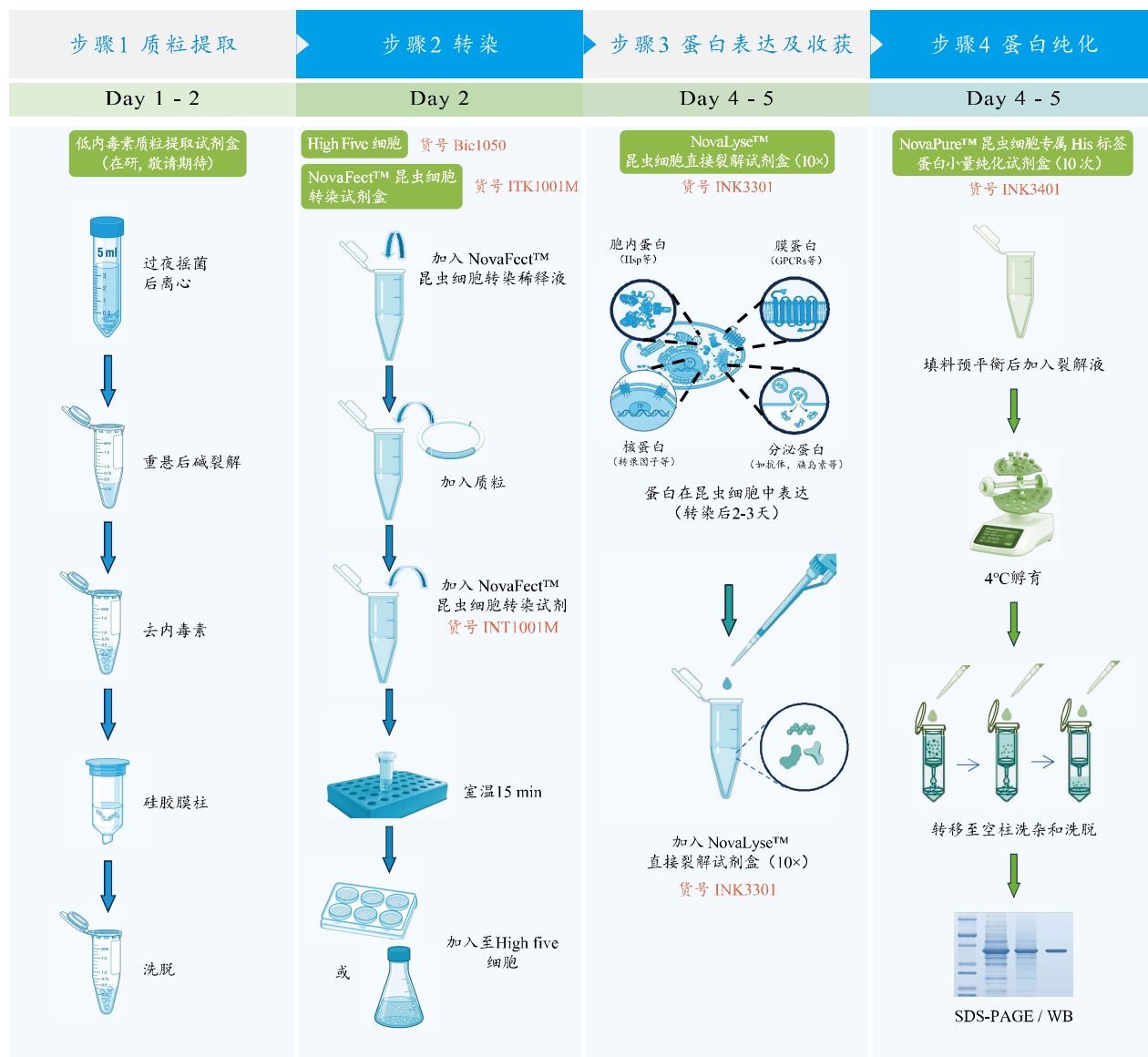
“零”适应期：本细胞系完全在唯地专属无血清培养基中驯化传代。配套使用可免去漫长且易导致细胞老化的“换液适应期”，细胞复苏后即刻进入高活力的对数生长期。

具体复苏、传代与无血清悬浮培养细节，请严格遵照唯地生物《High Five 细胞培养操作说明书》执行。

1.4 试剂盒内容

箱号	成分	货号	规格	保存条件
Box 1	High five 昆虫细胞	Bic1050	1 mL×1 管	-80℃ (2 年) 或液氮 (长期)
Box 2	pNovaRapid-gfp	PIC2011	20 μL×1 管	-20 °C
	pNovaRapid-mel	PIC2012	20 μL×1 管	-20 °C
	pNovaRapid-HSP40	PIC2013	20 μL×1 管	-20 °C
	pNovaRapid-HSC70	PIC2021	20 μL×1 管	-20 °C
	NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	INT1001M	1.5 mL×1 管	4 °C (勿冻)
	NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液	/	25 mL×1 瓶	4 °C (勿冻)
	Nova SFM™ 昆虫细胞无血清培养基	IM1011S	500 mL×1 瓶	4 °C (勿冻)

1.5 工作流程



NovaRapid™ 快速瞬时表达系统的完整操作流程可在 3 至 5 天内完成, 请见上面流程图, 主要包括以下步骤:

1. 第 1 天: 制备转染级别高纯度质粒 DNA。
2. 第 2 天: 准备指数生长期 High five 细胞; 配制转染复合物; 进行转染。
3. 第 3 天: 收获细胞或培养上清 (转染后 48 小时, 根据蛋白特性也可延至 72 小时)。

第二章 实验操作流程

2.1 细胞培养与维持

2.1.1 冷冻细胞的复苏

1. 将 Nova SFM™ 昆虫细胞无血清培养基置于 28℃ 培养箱中预热。
2. 从液氮或 -80℃ 冰箱中取出 High five 细胞冻存管, 立即置于 37℃ 水浴中快速解冻 (约 2 分钟), 期间轻轻摇动, 仅剩一块米粒大小的冰晶时, 立刻将其移出水浴。

3. 用 70~75% 乙醇消毒冻存管外壁，移入生物安全柜。
4. 小心打开冻存管，将细胞悬液缓慢转移至无菌 15 mL 或 50 mL 聚丙烯离心管中。
5. 将 5 mL 27~28°C 预热培养基逐滴加入细胞悬液中（切勿反向操作将细胞加入培养基）。
6. 轻轻吹吸 3 至 5 次混匀。
7. 取少量悬液进行计数，确定活细胞密度与活力（可省略，参考冻存细胞冻存管中标注的细胞数目）。
8. 按 2×10^4 – 5×10^4 活细胞/cm² 的密度接种至合适规格的培养瓶中（本公司冻存细胞为 1×10^7 或 2×10^7 ），培养瓶典型的接种密度见下表：

常用培养瓶规格	接种细胞数	培养基体积
T-25 (25 cm ²)	1.0×10^6	5 mL
T-75 (75 cm ²)	3.0×10^6	10 mL
T-150 (150 cm ²)	6.0×10^6	30 mL
6 cm 培养皿 (21 cm ²)	2.1×10^6	5 mL
10 cm 培养皿 (55 cm ²)	5.5×10^6	12 mL
15 cm 培养皿 (152 cm ²)	1.5×10^7	35 mL

注意：培养皿需要经过 TC 处理（Tissue culture treated），不能使用普通的细菌培养皿。

9. 轻轻摇晃使细胞均匀分布，置于 27~28°C 培养箱中培养 30 至 60 分钟使细胞贴壁。

注意：

(1) 常规冻存液操作：若使用传统含 DMSO 的冻存液，因残留 DMSO 具有强细胞毒性，复苏贴壁时间严格不能超过 2 小时，必须及时更换培养基以防细胞大量死亡。

(2) 推荐优化方案（省时/护细胞）：推荐使用本公司 NovaCryo™ 无血清昆虫细胞冻存液（货号：INR1001）。其采用独家温和配方，复苏后免洗免换液！无需在 2 小时内焦急等待，可直接原位培养 3 天后再常规换液（直接跳过操作说明中的第 10 步和第 11 步）。不仅彻底解放您的时间，更能避免换液操作对脆弱初复苏细胞造成的二次损伤，显著提升存活率。

10. 贴壁后将培养瓶倾斜 45°，小心吸弃含 DMSO 的培养基（购买本司冻存的细胞系和本司 NovaCryo™ 昆虫细胞冻存液可省略此步和第 11 步）。
11. 沿瓶壁缓慢加入合适体积的 27~28°C 预热新鲜培养基。
12. 置于 27~28°C 继续培养至单层细胞达 85% 至 95% 汇合。

2.1.2 贴壁单层培养的传代（如果细胞足够多，可省略此步骤）

1. 镜检观察细胞状态，确认单层汇合达 85% 至 95%，细胞形态圆润、边界清晰。

注意：健康 High five 细胞形态圆润，边界清晰；不健康细胞呈颗粒状。悬浮的细胞过多通常提示细胞状态不佳，但过度汇合的 Sf9 也会因接触抑制缺失而脱落并在悬液中分裂。

2. 小心吸弃旧培养基。
3. 加入合适体积的 27~28°C 预热新鲜培养基。
4. 用移液管轻柔反复吹打脱壁。

5. 将脱落的细胞转移至无菌 50 mL 离心管中。
6. 取少量样品进行细胞计数。
7. 按实验需求以 1:2 至 1:20 的比例（典型 1:8，每 3 至 4 天一次）接种至新瓶。

2.1.3 贴壁转悬浮培养

1. 取汇合至 85% 至 95% 的贴壁 High Five 细胞，小心吸弃旧培养基。加入合适体积的 27~28°C 预热的新鲜培养基（Nova SFM™ 昆虫细胞无血清培养基，货号：IM1011S），用移液管轻柔反复吹打脱壁，将脱落的细胞转移至无菌 50 mL 离心管中。
2. 取少量样品计数，然后接种至 125 mL 摇瓶，总体积 30–50 mL，起始密度 5×10^5 – 7×10^5 活细胞/mL。
3. 26–28 °C，摇瓶 95 rpm（振幅 50 mm），培养 24 小时，每个摇床振幅不同，具体请参考下表。

振荡轨道直径（振幅）	推荐转速
19 mm	125 ± 5 rpm
25 mm	125 ± 5 rpm
50 mm	95 ± 5 rpm

4. 计数，活力应 >90%。若密度低于 2×10^6 cells/mL，继续培养。
5. 当密度 > 2×10^6 cells/mL 时，以 2×10^5 – 4×10^5 活细胞/mL 传代，并逐步放大培养体积。
6. 当倍增时间稳定在 18–24 小时、活力 >90% 时，视为适应成功。

为确保良好的通气：

- 培养体积不超过摇瓶容积的 20%。
- 螺旋盖应保持轻微松动以利气体交换。
- 典型接种密度： 0.5×10^6 cells/mL。
- 最佳维持密度： 2×10^5 至 5×10^6 cells/mL。
- 传代密度：当密度达到 4×10^6 cells/mL 时进行传代。

注意：切勿过度稀释（低于 2×10^5 cells/mL），否则将导致细胞死亡。最大培养密度可达 9 至 10×10^6 cells/mL，但此时细胞因代谢毒物积累及氧气不足将迅速死亡。

2.1.4 台盼蓝排斥法细胞计数（需要快速，否则细胞容易死亡）

1. 取 50 μ L 细胞悬液加入 50 μ L 台盼蓝染液（0.4%，0.85% 生理盐水配制），反复吹打 5 次混匀。
2. 立即吸取少量混合液加入血球计数板两侧计数池。
3. 依照血球计数板使用说明进行计数。为提高准确性，建议对多份样品重复计数。

注意：台盼蓝仅染死细胞。但加入染料后需尽快计数，因活细胞会随时间逐渐失去排除染料的能力。High five 细胞活率应 > 90% 方可用于转染。

2.2 质粒 DNA 的制备



021-34790199



www.weidibio.com



sales@weidibio.com



上海市闵行区江月路 999 号 3 号楼 302 室

高质量质粒 DNA 是成功转染的关键。建议遵循以下原则：

- 推荐使用本司质粒提取纯化试剂盒纯化。
- 最终 DNA 应溶于 TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) 或 ddH₂O 中。
- A₂₆₀/A₂₈₀ 比值应介于 1.8 至 2.0 之间。
- 使用前检查：琼脂糖凝胶电泳应呈现清晰的超螺旋条带，无明显降解。

注意：避免使用含内毒素或多阴离子（如肝素、硫酸葡聚糖）污染的 DNA 制备品，这些污染物会显著抑制转染效率。

2.3 转染操作

2.3.1 转染前的一般注意事项

- 使用指数生长期细胞（每 2 至 3 天规律传代），避免过度汇合。
- High five 细胞配合 Nova SFM™ 昆虫细胞无血清培养基（货号：IM1011S）效果最佳。
- 在 DNA 与转染试剂复合物形成过程中建议使用 NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液。

2.3.2 不同规模转染的试剂用量

本系统可适用于多种培养规模。以下为常用规模的试剂用量参考表：

参数	6 孔板 (静置)	6 孔板 (悬浮)	12 孔板 (悬浮)	10 mL (悬浮)
细胞密度	0.5×10^6	2×10^6	2×10^6	2×10^6
培养体积	2.0 mL/孔	2.0 mL/孔	1.0 mL/孔	10 mL/瓶
NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液	100 μ L	200 μ L	100 μ L	1000 μ L
质粒 DNA 用量	2 μ g	4 μ g	2 μ g	20 μ g
NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂	8 μ L	16 μ L	8 μ L	80 μ L

2.3.3 6 孔板（静置）转染流程

【细胞准备】

1. 从指数生长期悬浮培养中取出细胞，用 28℃ 预热的无血清培养基稀释至 0.5×10^6 cells/mL，制备 15 mL 新鲜稀释液。
2. 向 6 孔板每孔加入 2.0 mL 细胞悬液（即每孔 1×10^6 细胞）。
3. 置于 28℃ 使细胞贴壁（60 分钟）。

【转染混合物的配制】

4. 每转染孔分别准备 1 个 1.5 mL 离心管（灭菌）。
5. 加入 NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液 100 μ L，然后加入 2 μ g 质粒 DNA 混匀，再加入 8 μ L 的 NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂，立即轻柔涡旋混匀，避免沉淀。
6. 室温孵育 15 分钟，形成转染复合物。

【转染】

7. 将转染混合物滴加至细胞中。
8. 盖上板盖，小心转移至 28°C 培养。
9. 48 小时后收获细胞用于后续蛋白分析或报告基因检测。

2.3.4 10 mL 悬浮培养转染流程（推荐用于蛋白制备）

1. 向 125 mL 摇瓶中接种 10 mL 2×10^6 个 High five 细胞。
2. 无菌管中加入 1 mL 转染稀释液（NovaFect™ 昆虫细胞转染稀释液）。
3. 加入 20 µg 质粒，混匀。
4. 加入 80 µL 转染试剂（NovaFect™ 昆虫细胞转染试剂），立即轻柔涡旋混匀，避免沉淀。
5. 室温孵育 15 分钟。
6. 将全部混合物滴加至 10 mL 细胞培养液中，不可直接加入。
7. 置于 28°C 摇床，90 rpm（摇床振幅 50 mm）振荡培养 48 小时。
8. 48 小时后收获细胞与培养上清进行蛋白分析或纯化。推荐使用本司的 NovaLyse™ 昆虫细胞直接裂解试剂盒（10×）（货号：INK3301）进行裂解，一步裂解，免超声，免离心，无缝兼容镍柱。

注意：对于分泌型蛋白，应同时收集培养上清。部分蛋白在 72 小时的表达水平更高，建议进行时间点优化实验（如 24、48、72 小时取样比较）。

第三章 常见问题与故障排除

现象	可能原因	解决方案
转染效率低	复合物形成时存在血清	DNA 与转染试剂复合物形成阶段严格使用无血清培养基；若细胞原在含血清条件下培养，转染前洗涤一次。
转染效率低	转染时细胞密度不合适	严格按推荐的细胞数接种，确保细胞处于指数生长期。
转染效率低	DNA 质量差	使用含内毒素去除步骤的试剂盒重新制备质粒
蛋白表达量低	目的蛋白存在毒性或降解	提前收获（24 至 36 小时）；加入蛋白酶抑制剂；尝试加入分泌信号序列使蛋白分泌至培养基。
蛋白表达量低	细胞状态不佳	使用第 5 至 20 代、指数生长期、活率 > 90% 的细胞。
蛋白不溶或呈包涵体	表达速率过高导致错误折叠	降低 DNA 用量；降低培养温度至 25–27°C
细胞活率下降	过度稀释	避免密度低于 2×10^5 cells/mL；维持 2×10^5 至 5×10^6 cells/mL 范围。
细胞活率下降	摇床转速过低或培养体积过大	悬浮培养体积不超过摇瓶容积 20%；摇床 150 rpm；螺旋盖轻微松动以利通气。

现象	可能原因	解决方案
纯化产物纯度低	目的蛋白与污染蛋白非特异性结合	增加洗涤缓冲液中咪唑浓度；延长洗涤步骤；考虑双标签纯化策略。

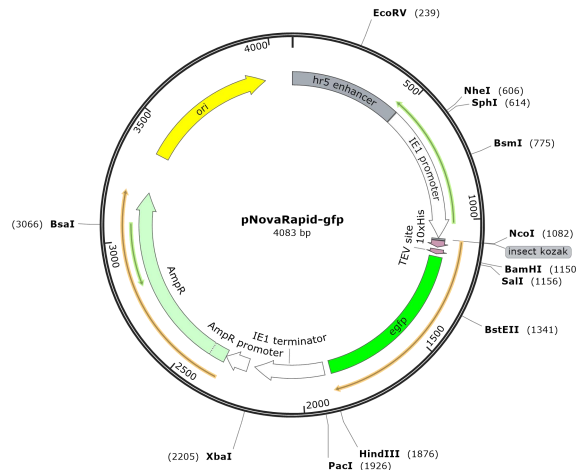
第四章 附录

pNovaRapid 质粒信息

(准确序列与精细图谱, 请至唯地生物官网一键下载)

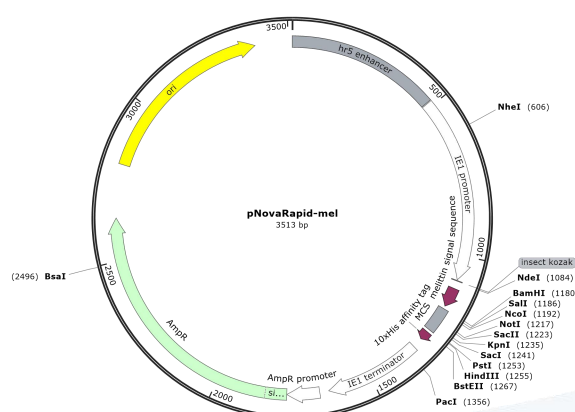
(1) pNovaRapid-gfp —— 您的“可视化”表达中枢 (对照/骨架载体)

- ✧ 性能标签: 极简示踪, 灵活百搭。
- ✧ 应用价值: 搭载绿色荧光蛋白 (GFP), 让表达优化与蛋白定位在荧光显微镜下“一目了然”。您既可以将其作为独立的阳性对照, 快速打通转染体系; 也可在目的基因两端进行融合表达; 更可通过预置的经典酶切位点 (BamH I/Sal I & Hind III) 轻松切除 GFP, 实现目标蛋白的纯净表达。



(2) pNovaRapid-mel —— 纯化“减负”利器 (分泌型表达载体)

- ✧ 性能标签: 极致分泌, 化繁为简。
- ✧ 应用价值: 创新性引入了强效的蜜蜂蜂毒素分泌信号肽 (Honeybee Melittin Signal Peptide)。它能如同“导航仪”般, 高效引导新



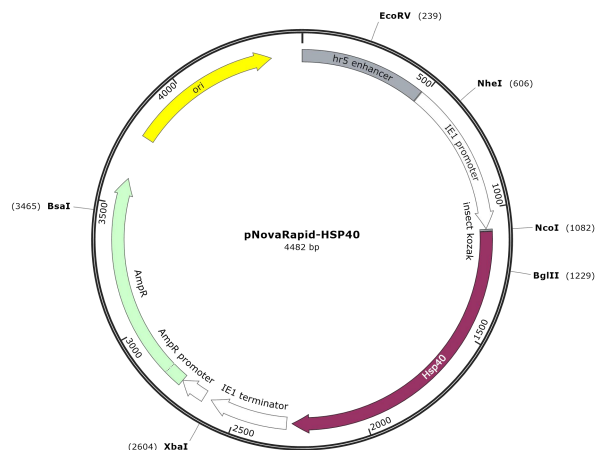
生蛋白进入分泌途径并直接释放至培养基中。

- ✧ **客户收益：**极大降低胞内毒性积累，免除破碎细胞的繁琐步骤，让后续的蛋白纯化如同探囊取物般轻松！广阔的多克隆位点（MCS）设计，支持目的基因在任意双酶切位点间的无缝插入。

(3) pNovaRapid-HSP40 —— 蛋白聚合“终结者”

(分子伴侣辅助载体)

- ✧ **性能标签：**精准识别，防止聚集。
- ✧ **应用价值：**面对极易形成包涵体的“刺客型”蛋白，HSP40 是您的第一道防线。作为核心共伴侣蛋白，它能敏锐捕捉新生或错误折叠的多肽链，将其死死“护住”，从源头上阻断包涵体的形成，大幅提升上清中的可溶性蛋白比例，可与含有目的基因的质粒共转染。



(4) pNovaRapid-HSC70 —— 复杂构象“重塑大师” (分子伴侣辅助载体)

- ✧ **性能标签：**活性重塑，完美折叠。
- ✧ **应用价值：**与 HSP40 堪称“黄金搭档”。HSC70 依托 ATP 循环系统，通过反复的“结合-释放”机制，如同精密的模具，强力辅助大分子量、多结构域的超复杂蛋白折叠成具有天然活性的完美构象，可与含有目的基因的质粒共转染。
- ✧ **客户收益：**告别“有表达无活性”的尴尬局面，真正拿到可用于下游严苛实验的高质量真蛋白。

