

版本号: RM121221

DNAfectin Transfection Reagent

DNAfectin转染试剂

目录号: RM202

产品内容

目录号	产品名称	包装
RM202-01	DNAfectin转染试剂 (1 mg/ml)	750 μ l
RM202-02	(DNAfectinTransfection Reagent)	4 \times 750 μ l

储存条件

4 $^{\circ}$ C 保存。不可冷冻。适当条件下可保存一年。

产品简介

本产品为阳离子脂质体转染试剂，适用于将DNA转入真核细胞中。

产品特点

1. 对大多数细胞都可高效转染，尤其对难转染的细胞系。
2. 高细胞活性，低细胞毒性。

注意事项

1. 不管哪种转染方法，细胞产率和毒性往往与转染活性相关。细胞产率可以通过以下手段进行提高，如：在高丰度的细胞中进行转染，在转染过程中使用更少的转染试剂或DNA。
2. 应在细胞密度高时转染。用于转染的最佳细胞密度根据不同的细胞类型或应用而异。一般贴壁细胞密度为60-90%，悬浮细胞密度应为 2×10^5 - 4×10^6 /ml时效果较好。因为转染效率对细胞密度很敏感，所以在不同实验间应保持一个基本的传代步骤，且应确保转染时细胞没有长满或处于静止期。
3. 转染时不要在培养基中加入抗生素，否则会导致细胞死亡。

转染步骤

以下条件仅作为参考意见。对于大多数实验6孔板已经足够，但是如果需要应用其它培养板，可根据表1调整转染试剂使用量。

1. 在6孔板的每孔中加入大约2 ml正常生长培养基（在需要的情况下加入血清），接种 1×10^5 - 3×10^6 细胞。在37°C条件下培养细胞至密度达60-90%。根据细胞类型不同，这一过程通常需要18-24 h不等。由于转染效率对培养条件及其敏感，所以应在不同的实验间建立一个标准的传代流程。
 2. 在灭菌的离心管中准备以下试剂：
试剂A：对于每孔细胞，使用125 μ l不含血清的培养基稀释1-3 μ g DNA。
试剂B：对于每孔细胞，使用125 μ l不含血清的培养基稀释4-10 μ l DNAfectin试剂。
注意：DNAfectin在使用前应先进行涡旋。DNAfectin稀释后，应在30 min内与稀释的DNA混合。
 3. 将试剂A和B混合在一起作为Mixture，在室温条件下孵育20 min以促进DNA-脂质体复合体的形成。孵育时间过长会降低活性。
-

4. 移去细胞中培养基，加入800 μ l不含血清的培养基。
5. 将Mixture加入细胞中，轻柔摇动培养板，确保混匀。在37°C条件下保温2-24 h（建议不低于5 h）。
6. 移去转染试剂，每孔加入2 ml含血清的完全培养基。在37°C条件下培养细胞24-72 h。
7. 根据细胞类型和启动子活性不同，在转染后24-72 h分析细胞抽提物，检测报告基因活性。
8. 对于稳定表达的细胞系，在转染72 h后，按1:10的比例在细胞中加入选择培养基对已转染的报告基因进行筛选。

培养板	培养基用量/孔 (ml)	Mixture 体积(μ l)	Mixture成份		不含血清培养基 体积(ml)
			DNA(μ g)	DNAfectin(μ l)	
96孔	0.1	12.5	0.05-0.15	0.2-0.5	0.08
24孔	0.5	25	0.2-0.6	0.8-2	0.16
12孔	1	50	0.4-1.2	1.6-4.0	0.32
35 mm	2	125	1-3	4-10	0.8
6孔	2	125	1-3	4-10	0.8
60 mm	5	375	3-9	12-30	2.4
10 cm	15	1000	8-24	32-80	6.4
