

DNA/RNA Transfecter Reagent

产品编号: PC-00007

产品规格: 0.3ml/0.75ml/1.5ml/5ml

存储条件: 4°C, 1 年有效期

产品特点:

- 1) 高效的转染效率, 可高达 99%, 一步法操作, 无需换液
- 2) 纳米材料制作, 可生物降解, 极低的细胞毒性, 应用更广泛
- 3) 低细胞毒性, 细胞存活率高达 95%以上, 性价比高, 节约实验经费
- 4) 后续实验如 QPCR, WB 等有超高特异性
- 5) 适用于各种真核细胞的 DNA 转染, siRNA 转染及共转染
- 6) 适用于各种原代细胞的 siRNA 转染及共转染

核酸要求:

- 1) 质粒 DNA (需去内毒素): 浓度 600-800ng/ul, 溶解于 ddH₂O 中
- 2) siRNA: 浓度为 20μM

注意事项:

- 1) 转染试剂使用前若有少量沉淀, 请使用振荡器混匀, 不影响产品品质
- 2) 质粒 DNA 必须溶解于 ddH₂O 中, 若溶于 Buffer 中, 转染效率会下降或转染失败
- 3) 质粒 DNA 必须去内毒素, 否则转染效率会下降或转染失败
- 4) 在制备复合物时, 请勿使用任何试剂对转染试剂和核酸进行稀释处理, 只需两者按照 1:1 比例进行混合即可
- 5) 制备复合物时, 使用移液器吹吸约 15 次, 进行混匀, 并确保管壁无液体残留
- 6) 制备好复合物后, 需室温孵育 10 分钟左右, 转染过程中无需使用无血清培养基培养, 整个过程都可以使用完全培养基进行细胞培养
- 7) 转染后在显微镜下观察到的白色或者黑色圆形颗粒物为纳米颗粒

使用方法:

- 1) 提前一天将细胞种植于细胞培养板中, 转染时细胞汇合度在 60%-80%为宜, 调整好细胞状态即可进行转染
- 2) 将核酸与转染试剂直接混合后, 使用移液器吹吸约 15 次进行充分的混匀, 室温孵育 10 分钟, 得到核酸+纳米复合物 (制备核酸+纳米复合物时确保管壁无液体残留)
- 3) 将核酸+纳米复合物添加到细胞中, 轻柔混匀, 放入培养箱中培养
- 4) 转染 24-48 小时后, 对细胞进行正常换液

注: 1) 复合物制备需在离心管中单独完成

2) 质粒 DNA 转染 48-72 小时再进行荧光检测转染效率, 48-96 小时检测 mRNA 或蛋白的表达, 若进行稳定表达细胞株的筛选, 需在转染 24-48 小时左右加入适量的药物进行筛选

3) siRNA 转染 9 小时荧光检测转染效率, 48-72 小时检测 mRNA 或蛋白表达



4) 质粒 DNA 转染后可长时间表达目的基因 (可达 2 周左右)

5) 加强转染法: 若第一次转染后转染效率不理想, 可在转染后第二天继续添加核酸+纳米复合物进行转染, 可进一步提高转染效率

转染梯度		一	二	三
DNA 转染	DNA	1.5ug	2ug	2.5ug
	转染试剂	1.5ul	2ul	2.5ul
siRNA 转染	siRNA (20 μ M)	1.5ul	2ul	2.5ul
	转染试剂	1.5ul	2ul	2.5ul
培养基总量		500ul	500ul	500ul

注: 1) 表格中数据为 24 孔板单孔为例, 其他规格培养板单孔数据, 如 96 孔板, 只需将上表数据除以 4, 12 孔板将上表数据乘以 2, 以此类推

2) 梯度一适用于好转染细胞, 如 HEK293T 等, 梯度二用于相对难转染细胞, 如 SH-SY5Y 等, 梯度三适用于难转染细胞, 如 RAW264.7 等, 对于极其难转染细胞, 根据上表转染试剂用量调整至 3ul-5ul 进行转染

3) 质粒 DNA (ug) 和 siRNA (ul) 与转染试剂 (ul) 的用量比例均为 1:1

4) 上表中的 siRNA 浓度为 20 μ M, 若 siRNA 浓度为 40 μ M, 则上表中的用量数据需减半, 若 siRNA 浓度为 10 μ M, 则上表中的用量数据需翻倍, 以此类推

共转染实验注意事项:

- 1) 根据上表及实验需求对各类核酸进行比例的调整
- 2) 先将各类核酸混匀后再进行于转染试剂混合

部分成功转染的细胞系	RAW264.7	Hep2	BGSCs	Huh7
	SH-SY5Y	HepG2	U251	Hela
	C6	NIH3T3	U266	HEK293T
	MKN45	A375	SGC-7901	B16
	PC-12	L6	CC12	Panc-1
	BV-2	Du145	PC3	A172
	A549	Caco-2	SW480	NOZ
	S16	DC	RSC96	BGC-823
部分成功转染的原代细胞	神经元细胞	雪旺细胞	干细胞	T 细胞
	星形胶质细胞	成纤维细胞	肾细胞	肝细胞