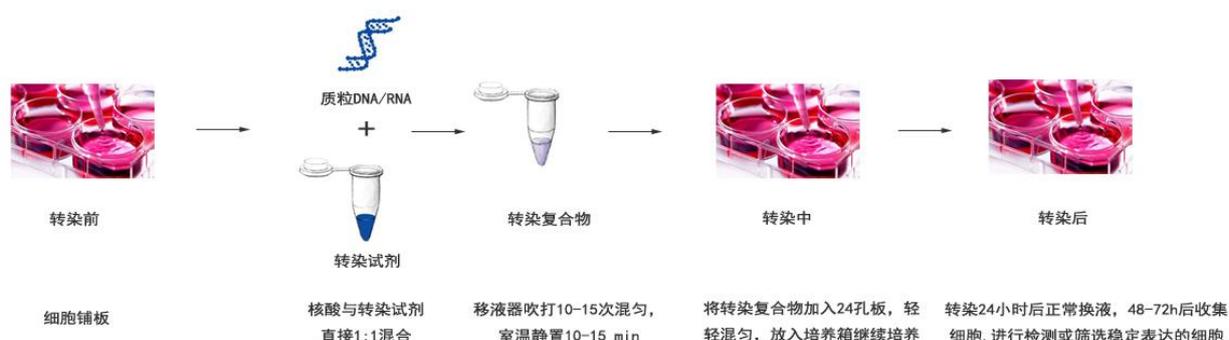


**Advanced 系列高效 DNA RNA 转染试剂操作说明书**

<b>产品名称</b>	Advanced DNA RNA Transfection Reagent
<b>包装规格</b>	<b>1.产品货号：</b> AD600025、AD600050、AD600075、AD600150、AD600500； <b>2.规格：</b> 0.25ml、0.5ml、0.75ml、1.5ml、5ml；
<b>储存条件</b>	常温运输，2-8℃保存，可保存两年，拒绝反复冻融。
<b>材料准备</b>	<b>1.siRNA、miRNA 或者小分子；</b> 浓度 20 uM /L。 <b>2.质粒 DNA ；</b> 浓度 300 ng-2 ug/ul (注意：①溶解于无菌双蒸水或超纯水，不可以溶解到提取试剂盒的 Buffer 溶液中；②无内毒素 )。
<b>操作步骤</b>	<b>1.提前 1 天接种细胞：</b> 细胞汇合度在 60-80%左右，再进行转染。 <b>2. 核酸复合物制备：</b> 将核酸与转染试剂按照 <b>1:1 数字</b> 关系直接混合，用移液器吹吸 10-15 次混匀，室温静置 10-15 分钟。 <b>3.在细胞培养基中加入核酸复合物：</b> 根据参考用量在细胞中加入核酸复合物，并轻轻混匀；细胞培养基里面可以含有血清。 <b>4.细胞换液：</b> 转染 24 小时后对细胞进行正常换液，悬浮细胞转染过程中不用换液。 <b>5.分析结果：</b> 质粒 DNA 转染 48-72 小时后荧光检测转染效率，48-96 小时检测 mRNA 或蛋白表达。若进行稳定表达细胞株的筛选，则在转染后 24-48 小时左右加入适量的药物进行筛选。siRNA 转染后 9 小时荧光检测转染效率，48-72 小时检测 mRNA 或蛋白表达。
<b>注意事项</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 1、质粒 DNA 必须溶解于无菌双蒸水或超纯水，不能溶解于提取试剂盒提供的 Buffer 溶液中；如果质粒 DNA 溶解于 Buffer 溶液中会导致转染效率下降 80%左右，甚至会转染失败。</li> <li>▪ 2、质粒必须去除内毒素，内毒素对细胞产生很大的细胞毒性，会导致转染效率下降 70%-80%左右，甚至导致转染失败（推荐使用 Qiagen、TIANGEN、Omega 去内毒素质粒提取试剂盒）。</li> <li>▪ 3、复合物的制备过程中是绝对不能用其他任何试剂对核酸或转染试剂进行稀释，只需将核酸和转染试剂两者按 1:1 比例直接混合，如果进行稀释会导致转染失败。</li> <li>▪ 4、转染试剂与核酸混匀后用移液器吹打 10-15 次，室温孵育 10-15 分钟后即可加入细胞培养板。</li> <li>▪ 5、转染 24 小时后进行正常换液，不能像 Lipo2000 一样转染 4-6 小时后换液。</li> <li>▪ 6、原代细胞、免疫细胞转染时，细胞基础培养基里面不能含有双抗培养基。</li> </ul>

**转染操作示意图**



### 不同转染实验各成分推荐用量

培养器皿	转染试剂用量 ( UL )	质粒 DNA 转染用量 ( UG )	siRNA 转染用量 ( UL )	培养基用量
96-well	0.4、0.5、0.6、0.8	0.4、0.5、0.6、0.8	0.4、0.5、0.6、0.8	125ul
48-well	0.8、1、1.3、1.5	0.8、1、1.3、1.5	0.8、1、1.3、1.5	250ul
24-well	1.5、2、2.5、3	1.5、2、2.5、3	1.5、2、2.5、3	500 μL
12-well	3、4、5、6	3、4、5、6	3、4、5、6	1ml
6-well	6、8、10、12	6、8、10、12	6、8、10、12	2ml
35 mm	7.5、10、12.5、15	7.5、10、12.5、15	7.5、10、12.5、15	2.5ml
60 mm	15、20、25、30	15、20、25、30	15、20、25、30	5ml
100 mm	45、60、75、90	45、60、75、90	45、60、75、90	15ml
T 25	19、25、31、38	19、25、31、38	19、25、31、38	6ml
T 75	56、75、94、113	56、75、94、113	56、75、94、113	19ml

### 例：用 6 孔板做转染实验

- a.转染质粒**      质粒(ug): 转染试剂 (ul) =8ug:8ul    或者 10ug:10ul  
**b.转染 siRNA**      siRNA(ul): 转染试剂 (ul) =8ul:8ul    或者 10ul:10ul

仅供科学研究使用，禁止用于它用