

Fast efficient DNA 转染试剂

包装组分

货号	P500025	P500050	P500075	P500150	P500500
试剂盒规格	0.25mlKIT	0.50mlKIT	0.75mlKIT	1.50mlKIT	5.00mlKIT
Fast efficient DNA-A 试剂 (货号 P5000A)	0.25ml	0.50ml	0.75ml	1.50ml	5.00ml
Fast efficient DNA-B 试剂 (货号 P5000B)	0.25ml	0.50ml	0.75ml	1.50ml	5.00ml

储存条件

2-8°C 保存，一年有效（避免冷冻）

产品简介：

Fast efficient DNA 转染试剂采用了先进的脂质纳米颗粒技术，实现绝佳转染性能和可重复性的结果。其可针对最广泛类型的常见及难转染细胞，实现超高转染效率，同时提供更高的细胞活力。Fast efficient DNA 转染试剂性质温和毒性低优化了转染过程的全部四个步骤，并结合先进的脂质纳米颗粒技术。绝佳的转染性能可以降低所需的试剂量，并降低所有可能对您的细胞系产生毒性的风险。对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率；转染时血清的存在不影响转染效率的优点。

适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

- 1.卓越的转染效率—针对最广泛类型的难转染细胞，可将效率提升 3~10 倍
- 2.作用温和，细胞毒性低—可改善细胞活力
- 3.高性价比高，同时实现顶级的转染结果

细胞转染注意事项：（每次转染一定要进行预实验，来摸索最佳条件，尤其是转染试剂的最佳用量！）

使用方法：DNA的转染

转染时高的细胞密度可以得到高的转染效率和表达水平，并能减少细胞毒性。

- 1.接种细胞至 70-90%汇合度时转染
- 2.使用 Opti-MEM 培养基稀释 Fast efficient DNA-B 试剂(建议用 2 管)，充分混匀
- 3.使用 Opti-MEM 培养基稀释 DNA，制备 DNA 预混液，然后添加 Fast efficient DNA-A 试剂，充分混匀。
4. 在每管已稀释的 Fast efficient DNA-B 试剂中加入以上稀释的 DNA (1:1 比例)。
5. 室温孵育 5~15 分钟。
6. 加入 DNA-脂质体复合物至细胞中。
7. 37°C 孵育细胞 2 天左右，分析转染细胞。

细胞培养容器		96-well	24-well	6-well
贴壁细胞		$1 \sim 4 \times 10^4$	$0.5 \sim 2 \times 10^5$	$0.25 \sim 1 \times 10^6$
步骤1 （建议用2管） Opti-MEM培养基稀释Fast efficient DNA-B试剂	Opti-MEM培养基	$5 \mu\text{L} \times 2$	$25 \mu\text{L} \times 2$	$125 \mu\text{L} \times 2$
	Fast efficient DNA-B	0.15和0.3 μL	0.75和1.5 μL	3.75和7.5 μL
步骤2 Opti-MEM培养基稀释DNA，制备DNA预混液，然后添加Fast efficient DNA-A试剂，充分混匀	Opti-MEM培养基	10 μL	50 μL	250 μL
	DNA (0.5 - 5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	0.2 μg	1 μg	5 μg
	Fast efficient DNA-A试剂(2 $\mu\text{L}/\mu\text{g}$ DNA)	0.3~0.4 μL	1.5~2 μL	8~10 μL
步骤3 Fast efficient DNA-B 试剂中加入稀释的DNA (1:1比例)	稀释的DNA （步骤2产物）	5 μL	25 μL	125 μL
	稀释的Fast efficient DNA-B (步骤1产物)	5 μL	25 μL	125 μL
步骤3得到混合物即是DNA-脂质体复合物，室温孵育5~15分钟				
加入DNA-脂质体复合物至细胞中		96-well	24-well	6-well

	DNA-脂质体复合物	10 μ L	50 μ L	250 μ L
37° C孵育细胞2 - 4天。然后分析转染细胞。				

细胞转染注意事项：

每次都不同，建议每次转染一定要进行预实验来摸索最佳条件，尤其是转染试剂的最佳用量！

- 1、细胞的种类和状态影响较大：转染时细胞必须处于良好生长状态，转染时细胞的密度一般铺板率在达到 70—80%最好（此时细胞处于对数生长期）；
 - 2、如果是贴壁细胞，应保证贴壁在 12~24 小时在进行转染，否则细胞转染容易脱壁。对于贴壁生长细胞，一般要求在转染前一日，必须应用胰酶处理成单细胞悬液，重新接种于培养皿或瓶，转染当日的细胞密度以 70-90%（贴壁细胞）或 2×10^6 - 4×10^6 细胞/ml（悬浮细胞）为宜，最好在转染前 4h 换一次新鲜培养液。
 - 3、质粒的大小，质量和用量对转染效率很关键。
 - 4、转染时注意脂质体和用量，过量的话对细胞毒性大也容易失败。
 - 5、转染作用 6 小时一定记得要换含血清的培养基
 - 6、培养基以及洗涤细胞和稀释用的培养基要无血清、无双抗。
 - 7、转染试剂对个别细胞可能有一定毒性，在转染过程由于提高细胞的通透性因而不能在培养基中添加抗生素。
 - 8、高纯度的 DNA 可获得较高的转染效率！用于转染的质粒 DNA 必须无蛋白质，无 RNA 和其他化学物质的污染，OD260/280 比值应在 1.8 以上。血清中含有大量的蛋白质，在转染过程中，带负电的蛋白质可能干扰阳离子脂质体对核酸的吸附，影响转染效率。另外，使用脂质体等转染试剂时，由于含血清转染会将血清中的蛋白带入细胞，引发细胞毒性，导致转染效率降低，故用无血清培养基转染效果更好！
 - 9、培养基中的血清：在开始准备 DNA 和转染试剂稀释液时要使用无血清的培养基，因为血清会影响复合物的形成。其实，只要在 DNA-转染试剂复合物形成时不含血清，在转染过程中是可以使用血清的。
 - 10、培养基中的抗生素：抗生素是影响转染的培养基添加物。这些抗生素一般对于真核细胞无毒，但阳离子脂质体试剂增加了细胞的通透性，使抗生素可以进入细胞。这降低了细胞的活性，导致转染效率降低。
 - 11、一般在转染 24-48h，靶基因即在细胞内表达。根据不同的实验目的，24-48h 后即可进行靶基因表达的检测实验。
 - 12、如若建立稳定的细胞系，则可对靶细胞进行筛选，根据不同基因载体中所含有的抗性标志选用相应的药物，常用的真核表达基因载体的标志物有潮霉素和新霉素等。
- 建议设置阳性对照和阴性对照。

仅供科学研究使用，禁止用于它用