

慢病毒包装细胞系转染试剂说明书

Cat. No. : OGTR(L)20131002 **产品规格:** 1 ml/支 **试剂保存:** 4°C保存, 请勿冷冻

产品介绍

此产品适用于慢病毒包装细胞系 (293T, 293FT) 的基因转染, 在最佳实验条件下, 转染后细胞的存活率高达 90%以上, 转染效率高于其他类型的转染试剂。**特点:** 1.转染效率高; 2.细胞毒性低; 3.生物稳定性高; 4.适用范围广泛; 5.不受有无血清及抗生素的影响; 6.操作简单, 无需更换培养基。

转染概要

1. 细胞状态很大程度上影响了转染效率, 推荐使用低代次细胞, 并保证细胞状态良好。
2. 为优化转染条件, 推荐使用 Opti-MEM 培养基制备转染试剂和质粒复合物; 如果没有准备 Opti-MEM 培养基则可用无血清培养基代替。
3. 为起始优化转染条件, 转染细胞时可以分别用转染试剂 (μl): 质粒的比例 (μg) = 1 : 2、2 : 2、3 : 2、4 : 2、5 : 2 多种比例梯度转染。
4. 为增加实验的准确性和减少检测的误差, 建议进行三个平行孔实验。
5. 质粒的抽提质量对转染的效果有很大的影响, 建议使用高质量无内毒素抽提的超纯质粒, 其中超螺旋质粒含量需大于 80%, OD260/OD280 > 1.8。

转染流程

1. 转染前一天, 将细胞悬液接种到孔板中, 控制细胞转染时的汇合率为 70-90%。
2. 制备转染试剂和质粒的复合物:
 - a. 取待转染质粒, 用 Opti-MEM 培养基轻轻混匀, 制备成质粒稀释液;
 - b. 取转染试剂, 用 Opti-MEM 培养基轻轻混匀, 制备成转染试剂稀释液;
 - c. 将步骤 b 得到的转染试剂稀释液滴加到步骤 a 得到的质粒稀释液中边加边轻轻混匀后在室温放置 20 分钟, 使 DNA 和转染试剂充分结合形成稳定的转染复合体。
3. 取出细胞培养板, 将步骤 2 得到的 DNA-转染试剂复合体加入到接种好的细胞中, 前后轻轻推摇孔板使混合均匀, 做好标记, 放回培养箱。
4. 转染 24-48 小时后, 观察质粒转染荧光效果, 或者检测 Luciferase 酶活性, 或者收取总蛋白/RNA 做 Western Blot/RT-PCR 等检测。

转染条件参考

培养板型号	每孔平均底面积	铺板细胞悬液体积	DNA 和稀释液总体积	转染试剂和稀释液总体积
96-well	0.3 cm ²	100 μl	0.4-0.6 μg in 7.5 μl	0.2-1 μl in 7.5 μl
24-well	2 cm ²	500 μl	0.8-1.2 μg in 30 μl	1-2.5 μl in 30 μl
12-well	4 cm ²	1 ml	1.8-2.5 μg in 50 μl	2-4 μl in 50 μl
6-well	10 cm ²	2 ml	3.5-5 μg in 100 μl	4-8 μl in 100 μl
60-mm	20 cm ²	5 ml	8-10 μg in 300 μl	8-20 μl in 300 μl
10-cm	60 cm ²	15 ml	24-28 μg in 800 μl	20-50 μl in 800 μl