

TECHNICAL DATA SHEET

UltraFection 3.0 高效转染试剂

产品编号	规格
FXP135-005	0.5ml
FXP135-010	1.0ml
FXP135-020	2.0ml
FXP135-050	5.0ml
FXP135-100	10.0ml

保存条件: -20℃保存, 2年有效;

产品介绍:

UltraFection 3.0 是一款新型的非脂质体聚合物转染试剂, 应用于体外高效转染, 细胞毒性低, 适用于含血清的培养基, 特别适于大量高表达蛋白的 DNA 转染、高通量筛选 cDNA 芯片和 RNA 以及 SiRNA 等。 *UltraFection 3.0* 可高效富集 DNA, 通过内吞作用将 DNA 摄入胞内, 具有结合保护 DNA 能力强, 毒性低的特点。

适用范围和特点:

- 1.与目前最常用的转染试剂相比, 转染效率更高。
- 2.可适用于瞬时转染和稳定转染。
- 3.细胞毒性低, 且可通过瞬时转染增加蛋白表达量。
- 4.有血清和无血清培养基均可使用, 不受介质变化的影响。

使用说明:

尽管以下转染的方法已经充分的验证过, 此试剂具有高效的转染效率, 但针对每种细胞, 还是建议试验人员进行条件优化, 通常要考虑以下问题:

- 1.细胞密度: 大多数贴壁细胞密度在 50-70%之间, 适合转染。确定转染最佳的细胞密度为每一个细胞类型的最大效率和维护密度在所有实验的重现性。
- 2.培养环境: 含血清的培养基对 *UltraFection 3.0* 转染无影响。
- 3.本产品为-20℃保存, 使用前建议分装冻存, 尽量避免多次反复冻存对转染试剂的影响。
- 4.DNA 纯度和浓度要求: 建议选用经过离子交换柱制备的高纯度、无菌的 DNA, 去除 DNA 中内毒素的污染是保证最大转染效率的关键步骤。以 HEK293 细胞为例, 24 孔板最适 DNA 转染浓度为每孔转染 0.5μg DNA。
5. *UltraFection 3.0* 和 DNA 的标准比例是 *UltraFection 3.0* : DNA=3: 1, 即 3μl 的 *UltraFection 3.0* 对应加入 1μg 的 DNA。但是推荐客户根据实验需要自行优化范围, 即根据每 1μg DNA 的量调节 *UltraFection 3.0* 加入的量(2-8μl)。

具体的 DNA 使用量请参考以下表 1:

培养板	生长面积 cm ² /孔	培养基体积	DNA 量/ 无血清培养基	<i>UltraFection 3.0</i> 量/ 无血清培养基
96 孔板	0.3	100μl	250ng/10μl	0.75μl/10μl
24 孔板	2	500μl	500ng/25μl	1.5μl/25μl
12 孔板	4	700μl	750ng/35μl	2.25μl/35μl
6 孔板	9.5	1ml	1μg/50μl	3μl/50μl
60mm 培养皿	20	3ml	2.5μg/150μl	7.5μl/150μl
100mm 培养皿	60	6ml	5μg/300μl	15μl/300μl

表 1: *UltraFection 3.0* 推荐转染条件

操作方法:

瞬时转染:

以 24 孔板为例, DNA 使用量请参考表 1:

1. 准备待转染细胞: 按照悬浮细胞 5×10^5 /孔、贴壁细胞 5×10^4 /孔的密度接种于 24 孔板中, 37°C 培养过夜; 转染前 30min, 将待转染细胞更换新鲜培养基。

2. 准备 *UltraFection 3.0*/DNA 复合物: 将 0.5μg DNA 溶于 25μl 的无血清培养基中, 漩涡震荡混匀; 将 1.5μl *UltraFection 3.0* 加入至 25μl 无血清培养基中, 漩涡震荡混匀, 将后者加入前者中, 立刻漩涡震荡混匀 10s, 室温孵育 10min。

3. 转染: 将上述 *UltraFection 3.0*/DNA 复合物加入每孔细胞 (含培养基 450μl), *UltraFection 3.0*/DNA 复合物体积约占总体积的 1/10。轻柔摇动 24 孔板以至复合物分散均匀。37°C 孵育 24-48h。必要时, 转染 6h 后可换新鲜培养基。

稳定转染:

按照上述瞬时方法转染。转染 24h 后, 将细胞以 1:10 的比例或更高的比例传代至选择性培养基中。在转染过程中, 要设置空转对照组 (只含 *UltraFection 3.0*, 不含 DNA)。定期更换新的筛选培养基以维持细胞在选择性培养基中的生长和传代。在转染 1-2 周后, 大部分的细胞均被杀死, 剩余能够在选择性培养基中存活生长的细胞都是稳定表达转染质粒的细胞, 即稳定整合到该细胞基因组中的靶细胞。直到稳定表达转染质粒的细胞增殖达到一定数量后才可收集。

注意事项:

1. 使用高纯度的 DNA (A260/A280 比值不应低于 1.8), 且无菌无内毒素更有助于获得较高的转染效率。
2. 转染前保证细胞必须处于良好的生长状态以及必要的细胞密度。
3. 低效的复合物 (*UltraFection 3.0*/DNA 复合物)、*UltraFection 3.0*/DNA 复合物比例、DNA 的纯度和浓度、细胞密度、支原体污染等都有可能造成转染率低。所以在转染之前, 请先进行条件优化。
4. 转染基因携带毒性、孵育条件的不佳、DNA 质量差及细胞密度低等均可对细胞造成较高毒性。
5. 使用后请立即盖好盖子, 避免长时间暴露在空气中, 影响转染效率。
6. 为了您的安全和健康, 请在符合洁净度要求的细胞培养室中进行转染操作, 操作时请穿实验服并戴一次性手套、口罩和无菌帽。