

新型转染试剂 U-200 Transfection Reagent

产品描述：

攸碧艾新型转染试剂 U-200 Transfection Reagent 是一种新型阳离子脂质体转染试剂，适用于将核酸（DNA 和 RNA）转染入真核细胞，可在各种哺乳动物贴壁和悬浮细胞系中提供高效转染，同时具有极低的细胞毒性。

本产品适用细胞类型广，转染时血清和抗生素的存在不影响转染效率，并且转染可以无需更换培养基。

产品规格：

产品名称	货号	规格	保存条件
新型转染试剂 U-200 Transfection Reagent	U31-552A	1.5ml	4℃
新型转染试剂 U-200 Transfection Reagent	U31-551A	0.75ml	4℃

产品特点：

- 1、转染效率高。
- 2、细胞毒性极低（细胞存活率>90%）。
- 3、操作简便，转染后无需更换培养基。
- 4、适用于高通量应用的可靠性能。
- 5、适用于各种哺乳动物细胞系的转染。

使用说明：

不同的核酸类型、细胞类型和不同面积的孔板转染操作略有不同，以 24 孔板 siRNA 转染为例。

1、接种细胞：

对于贴壁细胞，提前将细胞接种在 24 孔板中，过夜培养至细胞贴壁且细胞汇合度在 30%-50%时转染。转染前全培养基总量为 0.45ml。



对于悬浮细胞，采用对数生长期的细胞，数量为常规培养细胞数的 1/3 时进行转染实验。

2、转染步骤（试剂推荐用量见表 1）：

（1）取一无菌无酶离心管加入无血清稀释液和 10pmol 的 siRNA，充分混匀，制成终体积为 25 μ l 的 RNA 稀释液（无血清稀释液建议采用 OPTI-MEM、无血清 DMEM 或 1640），室温静置 5min。

（2）取另一新的无菌无酶离心管加入 24.5 μ l 无血清稀释液和 0.5 μ l 的 U-200，充分混匀，制成终体积为 25 μ l 的 U-200 稀释液，室温静置 5min。

（3）将 R100 稀释液和 RNA 稀释液混合并轻轻吹打均匀，室温静置 20min 即完成转染复合物的制备。

（4）将 50 μ l 转染复合物滴加到含有 0.45ml 完全培养基（可含 10%血清和抗生素）的孔中，混合均匀。

（5）转染后 4-6 小时观察细胞状态，如状态良好可不必更换培养基，继续培养 24-72 小时得到结果。

3、优化：由于核酸序列差异、合成条件不同以及是否带有荧光等标记，决定了核酸和转染试剂在不同情况下会有不同的最佳条件，建议先进行预实验优化。根据优化实验结果，固定 RNA(μ g): 转染试剂量(μ l)的比值，按培养器皿表面积比例应用到其他培养容器。

表 1.不同细胞培养容器转染推荐用量

细胞培养 容器	共享试剂		转染 DNA		转染 siRNA	
	培养基 总量/孔	稀释液 总量/孔	DNA 用量/孔	U-200 用量/孔	siRNA 用量/孔	U-200 用量/孔
96-well	100 μ l	10 μ l	0.1 μ g	0.2 μ l	20pmol	0.1 μ l
48-well	200 μ l	20 μ l	0.2 μ g	0.4 μ l	4pmol	0.2 μ l
24-well	50 μ l	50 μ l	0.5 μ g	1 μ l	10pmol	0.5 μ l
12-well	1ml	100 μ l	1 μ g	2 μ l	20pmol	1 μ l
6-well/35mm	2ml	200 μ l	2 μ g	4 μ l	40pmol	2 μ l
60mm/T25 flask	5ml	500 μ l	5 μ g	10 μ l	100pmol	5 μ l
100mm/T75 flask	10ml	1ml	10 μ g	20 μ l	200pmol	10 μ l



注意事项:

- 1、本产品可在血清和抗生物素的存在下使用,为了得到更高的转染效果,推荐使用无血清的 OPTI-MEM 培养基(U21-08100F/U21-08500F),也可以用培养细胞无血清 DMEM 或 RPMI1640 替代。
- 2、转染不同核酸时的细胞汇合度不同,建议转染 siRNA 时细胞汇合度 30%-50%,转染 DNA 时细胞汇合度 70%-90%。不同细胞转染适合的汇合度也有所不同,具体根据细胞情况选择适合的细胞汇合度进行转染。
- 3、由于不同细胞耐受性不同,我们建议您在做批量实验前先进行预实验,设置梯度用量摸索最佳核酸和 U-200 的混合比例。优化后可根据自身细胞情况决定具体用量。
- 4、整个转染实验过程中要注意无菌操作,避免细胞被污染。
- 5、转染 4-6 小时可以不用换液,但因为转染试剂 U-200 具有较低的细胞毒性,作用时间过长仍然可能使某些细胞出现状态不佳甚至死亡现象,所以建议换液。
- 6、如转染后需要提取 RNA,建议转染后 6 小时换液。
- 7、本产品仅作体外科研使用,不可用于临床诊断或治疗。

保存方法:

4℃保存,2 年有效,切勿冻存。冰袋或者湿冰运输,短时间内可室温运输,但需避免光源热源。

使用范围:

仅限科研使用,不能应用于临床。

