北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

DEAE-Dextran 细胞转染试剂盒

产品简介:

外源基因导入真核细胞的方法有很多种，如磷酸钙转染法、DEAE-葡聚糖(Dextran)转染法、脂质体法、电穿孔法、显微注射法等，DEAE-葡聚糖转染法的原理是带正电荷的 DEAE-葡聚糖与带负电的核酸的磷酸骨架相互作用，形成复合物，该复合物通过细胞内吞噬作用使 DNA 转导进入细胞核。

DEAE-Dextran 细胞转染试剂盒(DEAE-Dextran Cell Transfection Kit)适用于瞬时转染(Transient Tranfection)，不宜用于筛选稳定表达细胞株，这是因为DEAE-dextran 在较高浓度作用较长时间会对细胞产生一定毒性；氯喹的加入可以抑制溶酶体对外源 DNA 的降解，从而提高转染效率，但对于具体的细胞、具体的培养条件，如需获得更加理想的转染效率，须自行摸索上述各种转染方法，找出优化的转染方法，CHO、DUKX、BⅡ等细胞也可以通过甘油、DMSO 进行热休克处理以提高转染效率。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCCZ0010 100T	GCCZ0010 200T	Storage
试剂(A): DEAE-Dextran Solution	10ml	20ml	-20℃
试剂(B): PBS(10×)	50ml	100ml	4℃
试剂(C): Chloroquine Solution	1.8ml	3.5ml	4℃
使用说明书	1 份		

自备材料:

1、胰蛋白酶消化液、完全培养基、无菌水

操作步骤(仅供参考):

(一)常规转染:

1、配制 PBS(1×)：用无菌水将 PBS(10×)稀释至 1×，即可。

2、在转染前 24h 用胰蛋白酶消化培养细胞，取适量对数期细胞转移至新的培养器皿中，待细胞密度达 50～70%即可进行转染；后续操作步骤均按 6 孔板计算，如果转染器皿不同，请按比例自行调节用量。

3、弃培养液，用 PBS(1×)清洗细胞 2~3 次，吸尽残液。

4、配制转染液：对于 6 孔板，按照下表依次加入 8μl DEAE-Dextran Solution，2μgDNA

以及适量的 PBS(1×)，使其总体积为 170μl，即为 DEAE-Dextran-DNA-PBS 转染液，用移液器轻轻吹打混匀，但不宜采用离心或 Vortex 等剧烈方式。

试剂	6 孔板	24 孔板	60mm 培养皿	100mm 培养皿
DEAE-Dextran Solution	8μl	2μl	17μl	28μl
DNA	xμl(2μg)	xμl(0.5μg)	xμl(4μg)	xμl(7μg)
PBS(1×)	(162-x)μl	(40-x)μl	(325-x)μl	(540-x)μl
总体积	**170μl**	**42μl**	**342μl**	**568μl**
细胞培养液	1.7ml	0.4ml	3.5ml	6ml
Chloroquine Solution (可选)	17μl	4μl	35μl	60μl

备注：对于六孔板中一个孔的细胞，DNA 可以在 1～3μg 的范围内进行适当调节，最佳的转染条件，因具体的细胞和培养条件而定，可以在上述推荐范围内自行优化转染条件；对于其它培养板或培养器皿，试剂的用量可大致按照细胞培养面积按比例换算。

5、转染：把 170μl 转染液滴加到细胞表面，轻轻晃动 6 孔板，使其与细胞表面充分接触，37℃孵育 20～40min，观察细胞至皱缩变圆为止。

6、参考上表，每孔缓慢加入 1.7ml 细胞培养液(约为 DEAE-Dextran-DNA-PBS 转染液体积的 10 倍)。

7、可选步骤：参考上表，每孔加入 17μl Chloroquine Solution，亦可和上一步骤中 1.7ml 细胞培养液预先混合后一起加入。

8、培养不超过 2h 或在出现明显的细胞毒性前，更换新鲜培养液继续培养，通常转染后 48～72 小时可以检测转染效果。

(二)预处理转染：

1、配制 PBS(1×)：用无菌水将 PBS(10×)稀释至 1×，即可。

2、在转染前 24h 用胰蛋白酶消化培养细胞，取适量对数期细胞转移至新的培养器皿中，待细胞密度达 50～70%即可进行转染，后续操作步骤均按 6 孔板计算，如果转染器皿不同，请按比例自行调节用量。

3、弃培养液，用 PBS(1×)清洗细胞 2~3 次，吸尽残液。

4、配制转染液：对于 6 孔板，按照下表依次加入 0.1ml DEAE-Dextran Solution、0.9ml PBS(1×)，使其总体积为 1ml，即为 DEAE-Dextran 工作液。

5、预转染：对于 6 孔板，把 1ml 转染液滴加到细胞表面，轻轻晃动 6 孔板，使其与细胞表面充分接触，37℃孵育 10min。

6、洗涤：弃液，用 PBS(1×)轻轻清洗 2 次，注意防止细胞脱落。

7、弃洗涤液，参考下表，每孔缓慢均匀加入 162μl DNA 工作液。

8、37℃孵育 30min，参考下表，每孔缓慢加入 1.7ml 细胞培养液(约为 DNA 工作液体积的 10 倍)。

试剂	6 孔板	24 孔板	60mm 培养皿	100mm 培养皿
DEAE-Dextran Solution	0.1ml	25μl	0.2ml	0.4ml
PBS(1×)	0.9ml	225μl	1.8ml	3.6ml
DEAE-Dextran 工作液	**1ml**	**250μl**	**2ml**	**4ml**
DNA	xμl(2μg)	xμl(0.5μg)	xμl(4μg)	xμl(7μg)
PBS(1×)	(162-x)μl	(40-x)μl	(325-x)μl	(540-x)μl
DNA 工作液	**162μl**	**40μl**	**325μl**	**540μl**
细胞培养液	1.7ml	0.4ml	3.5ml	6ml
Chloroquine Solution (可选)	17μl	4μl	35μl	60μl

备注: 对于六孔板中一个孔的细胞，DNA 可以在 1～3μg 的范围内进行适当调节；最佳的转染条件因具体的细胞和培养条件而定，可以在上述推荐范围内自行优化转染条件，对于其它培养板或培养器皿，试剂的用量可大致按照细胞培养面积按比例换算。

9、 可选步骤：参考上表，每孔加入 17μl Chloroquine Solution，亦可和上一步骤中 1.7ml 细胞培养液预先混合后一起加入，培养不超过 4h 或在出现明显的细胞毒性前，更换新鲜培养液继续培养，通常转染后 48～72 小时可以检测转染效果。

注意事项:

1、 注意无菌操作，尽量避免污染，同时 DNA 不应含有蛋白和酚。
2、 休克处理某些细胞系会使转染效率大大提高，但应注意甘油暴露过久易导致细胞死亡。
3、 转染 12～24h 后，可以加入终浓度为 10mmol/L 的丁酸钠溶液，可以提高病毒滴度。
4、 如果转染效率低下，有可能是过多细胞死亡所致，应考虑减少 DEAE-Dextran 的用量或作用时间，或者减少氯喹作用时间。
5、 支原体污染细胞，易导致转染不稳定。
6、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
7、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 6 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCNR0003	Lezol(总 RNA 提取试剂)
GCPE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
GCTC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)