

Kigene I Transfection Reagent

产品详情

目录号	C095-10
保存方法	4℃ 12 个月
产品规格	1ml
注意	不可冷冻

产品简介

Kigene I 转染试剂是经过本公司优化的阳离子聚合物，其转染原理是带正电的聚合物与核酸分子的带负电的磷酸基团形成带正电的复合物后，与细胞表面带负电的蛋白多糖相互作用，并通过胞吞作用进入细胞。

本产品经过本公司的优化处理，具有转染效率高，细胞毒性低，操作简单，重复性好，适用范围广等特点。

使用方法

1. 接种细胞

对于贴壁细胞，转染前 18-24 h 进行铺板（不含抗生素），使其在转染时的密度大约在 80% 左右。对于悬浮细胞，转染当天，在配制 DNA 复合物之前进行铺板，每 500 μ L 生长培养基中加入 $4 \sim 8 \times 10^5$ cells。

注：培养液中的血清不影响转染效率。转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响，建议初次使用时设置梯度进行优化最佳使用量。

2. 准备 Kigene I -DNA 复合物

对于每孔细胞，将 1 μ g 质粒 DNA 稀释到 40 μ L 无血清的高糖 DMEM 培养基（或 OPTI-MEM I 培养基），混匀。

对于每孔细胞，将 3 μ L 转染试剂稀释到 40 μ L 无血清的高糖 DMEM 培养基（或者 OPTI-MEM I 培养基），轻轻混匀。

注：无血清的高糖 DMEM 培养基是稀释液，不能使用含血清的培养基进行 DNA 和转染试剂的稀释。因为 DNA 转染复合物的形成过程不能含有血清。

将稀释好的转染试剂尽快全部加入到已稀释好的质粒 DNA 中，轻轻混匀。

注：此混合的顺序不能反向进行。

室温放置 10-15 min，以形成转染试剂-DNA 复合物。

3. 转染细胞

将上述 80 μ L 转染试剂-DNA 转染复合物均匀滴入到含细胞的培养皿中。轻轻晃动培养皿或轻微振荡，让转染试剂-DNA 复合物分散均匀。

在 37℃，5%CO₂ 培养箱培养 6-18 h，去除含转染试剂-DNA 复合物的培养液，更换新

的培养液，继续培养至对转入基因表达分析。

注：筛选稳定转染细胞株，转染细胞 24 h 后，将细胞传代至新鲜的生长培养基中（将细胞稀释 10 倍以上），在 37°C，5%CO₂ 培养箱中孵育 24 h，加入筛选培养基。在有转染抗性基因相匹配的药物筛选条件下，约 1~2 周可筛选到耐药性克隆，在这期间需经常更换含筛选药物的生长培养基。

注意事项

1. 质粒质量：请务必使用高纯度无内毒素转染级质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度，260nm / 280 nm 比值确定 DNA 纯度（比值应该在 1.8~2.0 的范围之内）。如有可能，请通过琼脂糖凝胶电泳检测质粒的完整性。
2. 细胞条件：使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保细胞没有被细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞，请在转染前至少传代两次。
3. 细胞培养液要求：Kigene I 细胞转染试剂可用于有血清培养基的转染，并且转染前不需要换培养基。但是制备转染复合物时要求用无血清培养基稀释 DNA 和转染试剂，因为血清会影响复合物的形成。确保细胞培养液没有被细菌、真菌或支原体污染。转染时培养液中不添加抗生素。
4. 试剂用量的优化：DNA 浓度和转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响，初次使用应优化 DNA 浓度和转染试剂量以得到最大的转染效率。使用者可尝试每 1 μg DNA 使用 1~4 μL 体积 Kigene I 细胞转染试剂进行优化。DNA 和转染试剂的比例，通常推荐是 1:2~1:5。

不同培养体积对应的待转 DNA、Kigene I、稀释液用量				
培养载体	培养液体积 (ml)	DNA 量 (ug)	Kigene I	稀释液 (ul)
48 孔板	0.3	0.5	1.5	2X25
24 孔板	0.5	1	3	2X40
12 孔板	0.75	1.5	4.5	2X60
6 孔板	1	3	9	2X125
35mm 培养皿	1	3	9	2X125
60mm 培养皿	3	6	18	2X250
100mm 培养皿	9	12	36	2X500

该表使用量仅供参考，具体使用量还需根据细胞类型及其他实验条件进行优化。使用时 DNA (μg) : Kigene I 细胞转染试剂 (μL) 比值保持在 1:2~1:5。