

ezFect DNA transfection reagent说明书

货号：100-505

产品保存

4℃储存，有效期12个月。长期不使用可置于-20℃保存。常温运输。

产品简介

本产品是新一代水溶性高分子，高电荷阳离子聚合物转染试剂，可与带负电荷的质粒DNA形成稳定的复合物，然后黏附到带有负电荷的细胞表面，透过细胞膜进入细胞内。本产品适用于把质粒DNA高效瞬时转染到贴壁或悬浮细胞中，可在含血清与抗生素的完全培养基中充分发挥作用。本试剂在转染大至13kb的质粒时，依然保持了高效率。

产品组成

货号	组分	规格
100-505	ezFect DNA transfection reagent	1 mL

产品特征

1. 转染效率高，操作简便，毒性低，重复性好。对于大部分细胞系，如：HEK293T、HEK293F、Expi293、CHO和HeLa等，按照DNA用量(μg)和转染试剂(μL)的比例为1:1至1:2使用时，转染效率已达80%-90%。
2. 兼容性好，转染可在有血清和抗生素存在的情况下进行，无需预先更换Opti-MEM®或其它无血清培养基。
3. 转染试剂为化学合成产物，不含动物源成分(Animal origin-free, AOF)。
4. 本品已经0.22 μm 滤膜过滤除菌。

使用说明 (转染DNA)

(本说明以6孔板，293T细胞为例)

1. 接种细胞

转染前一天，将293T细胞接种在6孔板中， $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 每孔，使用含10%血清的DMEM培养18-22小时。

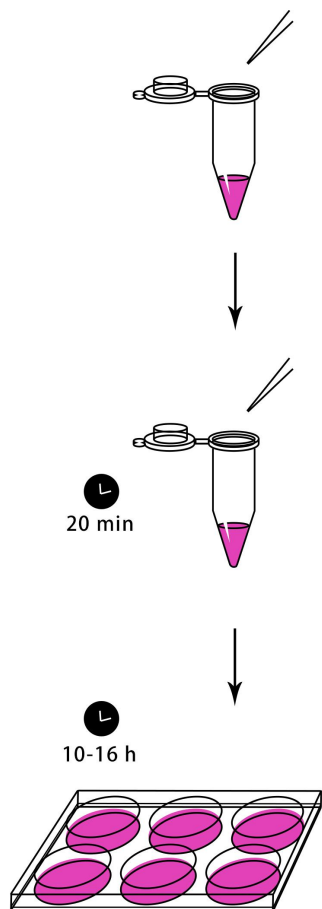
2. 转染过程

- a) **配置DNA稀释液（每孔）**：将2 μg 质粒DNA加入100 μL 无血清DMEM培养基中，涡旋混匀5秒或者用移液枪吹打20次。
- b) **制备转染复合物（每孔）**：向DNA稀释液中直接加入3 μL 转染试剂，涡旋混匀5秒或者用移液枪吹打20次，室温静置20分钟（不宜超过30分钟）。
- c) 用移液枪将转染复合物分散滴入细胞培养孔中，轻轻摇晃6孔板以混匀。
- d) 转染10-16小时，除去旧的培养基，更换为2 mL新鲜的含10%血清的DMEM培养基。
- e) 继续培养24到48小时，进行后续实验。

不同规格细胞培养容器，DNA与转染试剂用量参考表

细胞培养容器	培养基体积	稀释液体积	DNA 用量	转染试剂
96-well 板	100 μ L	10 μ L	0.1 μ g	0.15 μ L
48-well 板	200 μ L	20 μ L	0.2 μ g	0.3 μ L
24-well 板	500 μ L	50 μ L	0.5 μ g	0.75 μ L
12-well 板	1 ml	50 μ L	1 μ g	1.5 μ L
6-well 板	2 ml	100 μ L	2 μ g	3 μ L
6 cm 培养皿	4 ml	200 μ L	4 μ g	6 μ L
10 cm 培养皿	10 ml	500 μ L	10 μ g	15 μ L

例：6孔板，293T细胞



配置DNA稀释液（每孔）：

将2 μ g质粒DNA加入100 μ L无血清DMEM培养基中，涡旋混匀5秒或者用移液枪吹打20次。

制备转染复合物（每孔）：

向DNA稀释液中直接加入3 μ L转染试剂，涡旋混匀5秒或者用移液枪吹打20次，室温静置20分钟（不宜超过30分钟）。

用移液枪将转染复合物分散滴入细胞培养孔中，轻轻摇晃6孔板以混匀。

转染10-16小时，除去旧的培养基，更换为2 mL新鲜的含10%血清的DMEM培养基。继续培养24到48小时，进行后续实验。

使用说明（转染siRNA）

（本说明以6孔板，终浓度50 nM siRNA为例）

1. 接种细胞

转染前一天，将合适数量的细胞接种在6孔板中，使得转染时细胞密度达30%-70%。

2. 转染过程

- 取一个无菌的1.5mL 离心管，先加100 μ L无血清培养基，再加入100 pmoles siRNA，混匀。
- 向siRNA中再加入5 μ L转染试剂，立即涡旋混匀5秒或者用移液枪吹打20次，室温静置 20分钟（不宜超过30分钟）。
- 用移液枪将转染复合物分散滴入细胞培养孔中，轻轻摇晃6孔板以混匀。
- 转染10-16小时，除去旧的培养基，更换为2 mL新鲜的完全培养基。
- 继续培养24到48小时，利用qPCR或Western blot检测目的基因的表达水平。

不同规格细胞培养容器，siRNA与转染试剂用量参考表

细胞培养容器	培养基体积	稀释用无血清培养基体积	siRNA 用量	转染试剂
24-well 板	500 μ L	50 μ L	25 pmoles	1.25 μ L
12-well 板	1 ml	50 μ L	50 pmoles	2.5 μ L
6-well 板	2 ml	100 μ L	100 pmoles	5 μ L
6 cm 培养皿	4 ml	200 μ L	200 pmoles	10 μ L
10 cm 培养皿	10 ml	500 μ L	500 pmoles	20 μ L

注意事项

- 转染前细胞须处于良好的生长状态。选用处于对数生长期、活力高、传代次数低的细胞可获得较佳的转染效果。
- 质粒DNA的质量是转染成功的关键。建议使用高纯度，无内毒素质粒。质粒用量需根据细胞类型和具体试验条件而调整。
- 根据具体的试验条件和细胞类型，DNA(μ g)/转染试剂(μ L) 的比例建议在 1:1至1:4之间优化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 使用中遇到任何问题，请联系我们的技术支持。