



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

DEAE-Dextran细胞转染试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C0511	DEAE-Dextran 细胞转染试剂盒	>200次

产品简介:

- DEAE-Dextran细胞转染试剂盒(DEAE-Dextran Transfection Kit)是一种适合于把DNA转染到培养的真核细胞中的转染试剂盒。
- 关于DEAE-dextran的细胞转染方法早在1968年就有相关论文发表。DEAE-dextran可以促使DNA结合到细胞膜上, 然后通过内吞作用(endocytosis)进入细胞。基于DEAE-dextran的细胞转染方法适用于瞬时转染(transient transfection), 但不适用于筛选稳定表达细胞株。DEAE-dextran在较高浓度作用较长时间会对细胞产生一定毒性。
- 目前基于DEAE-dextran的细胞转染方法有两种, 一种方法为把DNA和DEAE-dextran混合后加入到细胞中, 另一种方法为先用DEAE-dextran预处理细胞, 然后再加入DNA。后一种方法是在前一种方法的基础上经过改进而产生的, 对于一些细胞包括Hela、COS、NIH3T3和KB细胞等, 后一种方法可以增加细胞对DNA的摄入量, 显著改善转染效果。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, 必须自行摸索上述各种转染方法, 找出优化的转染方法。
- 基于DEAE-dextran的细胞转染方法不仅可以转染贴壁细胞, 也可以转染悬浮细胞。
- 转染效率可以通过转染表达EGFP或其它荧光蛋白的质粒进行快速鉴定。
- 关于不同的细胞转染试剂的主要特点和差异方面的比较, 以及如何选择适当的细胞转染试剂, 可参考碧云天的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/transfection.htm>。
- 对于六孔板而言, 一个包装的本转染试剂如使用常规方法可以转染2500个孔, 如使用预处理方法可以转染200个孔。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0511-1	DEAE-Dextran溶液	20ml
C0511-2	10XPBS	20ml
C0511-3	氯喹溶液	3.5ml
—	说明书	1份

保存条件:

4°C保存, 一年有效。

注意事项:

- 使用高纯度的DNA或RNA有助于获得较高的转染效率。对于质粒, 可以使用碧云天生产的质粒大量抽提试剂盒(D0026)进行抽提, 以保证获得较高的转染效率。
- 转染前细胞必须处于良好的生长状态。
- 试剂盒中各试剂均经过无菌处理, 可以直接使用。在细胞转染过程中要严格注意无菌操作。
- 需自备用于洗涤的PBS或HBSS, 以及用于稀释10XPBS的无菌水。
- 稀释或配制DEAE-Dextran溶液或DNA的1XPBS可以用试剂盒中提供的10XPBS稀释。
- 氯喹溶液对人体有害, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 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。

使用说明:

1. DEAE-Dextran常规转染方法

- 细胞培养(以六孔板为例, 其它培养板或培养皿参考六孔板进行操作):
- 在转染前一天(20-24小时)把约20-60万细胞(具体的细胞数量据细胞大小和细胞生长速度而定)培养到六孔板内, 使第二天细胞能达到约40-70%满。
- 混匀试剂盒中各试剂。取适量10XPBS, 稀释为1XPBS。37°C预热自备洗涤液(PBS或HBSS)。
- 参考下表, 对于待转染的六孔板中一个孔的细胞, 依次加入适量1XPBS, 2μg DNA, 以及8μl DEAE-Dextran溶液, 使最终体积为170μl, 用枪轻轻吹打混匀。注意: 不宜Vortex或离心。

	One well for 6-well plate	One well for 24-well plate	60mm dish	100mm dish
1XPBS	(162-x) μ l	(40-x) μ l	(325-x) μ l	(540-x) μ l
DNA	x μ l (2 μ g)	x μ l (0.5 μ g)	x μ l (4 μ g)	x μ l (7 μ g)
DEAE-Dextran溶液	8 μ l	2 μ l	17 μ l	28 μ l
总体积	170 μ l	42 μ l	342 μ l	568 μ l
均匀滴加到细胞表面, 细胞培养箱内孵育30分钟, 孵育期间经常摇动培养板以保持所有细胞湿润				
添加细胞培养液量	1.7ml	0.4ml	3.5ml	6ml
添加氯喹溶液量(选做)	17 μ l	4 μ l	35 μ l	60 μ l
细胞培养箱内培养不超过2.5小时或出现细胞毒性前更换培养液, 继续培养48-72小时				

注1: 对于六孔板中一个孔的细胞, DNA用量可以在1-3 μ g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。

注2: 对于其它培养板或培养器皿, 各种试剂的用量可以大致按照细胞培养面积按比例进行换算。

- 去除细胞培养液, 用PBS洗涤细胞2-3次, 吸除残留液体。
- 把170 μ l DEAE-Dextran-DNA混合物均匀滴加到细胞表面。
- 细胞培养箱内孵育30分钟, 孵育期间经常摇动培养板以保持所有细胞湿润。
- 参考上表, 每孔缓慢加入1.7ml细胞培养液(约DEAE-Dextran-DNA混合物体积的10倍)。
- 选做: 参考上表, 每孔加入17 μ l氯喹溶液。氯喹溶液可以和上一步骤中1.7ml细胞培养液预先混合后一起加入。
- 细胞培养箱内培养不超过2.5小时或在出现明显的细胞毒性前, 更换新鲜细胞培养液继续培养。
- 通常转染后48-72小时可以检测转染效果。

2. DEAE-Dextran预处理转染方法

- 细胞培养(以六孔板为例, 其它培养板或培养皿参考六孔板进行操作):
在转染前一天(20-24小时)把约20-60万细胞(具体的细胞数量据细胞大小和细胞生长速度而定)培养到六孔板内, 使第二天细胞能达到约40-70%满。
- 混匀试剂盒中各试剂。取适量10XPBS, 稀释为1XPBS。37 $^{\circ}$ C预热自备洗涤液(PBS或HBSS)。
- 参考下表, 取适量试剂盒中提供的DEAE-Dextran溶液用1XPBS稀释10倍。对于六孔板的一个孔, 取0.1ml DEAE-Dextran溶液, 加入0.9ml 1XPBS, 混匀。
- 参考下表, 取适量DNA用1XPBS稀释。对于六孔板的一个孔, 取2 μ g DNA, 加入适量1XPBS使最终体积为162 μ l。

	One well for 6-well plate	One well for 24-well plate	60mm dish	100mm dish
1XPBS	0.9ml	225 μ l	1.8ml	3.6ml
DEAE-Dextran溶液	0.1ml	25 μ l	0.2ml	0.4ml
稀释的DEAE-Dextran溶液	1ml	250 μ l	2ml	4ml
DNA	x μ l (2 μ g)	x μ l (0.5 μ g)	x μ l (4 μ g)	x μ l (7 μ g)
1XPBS	(162-x) μ l	(40-x) μ l	(325-x) μ l	(540-x) μ l
稀释的DNA	162 μ l	40 μ l	325 μ l	540 μ l
去除细胞培养液, 用PBS或HBSS洗涤两次, 每次3-5分钟				
加入稀释的DEAE-Dextran溶液, 室温孵育9分钟, 洗涤两次				
把稀释的DNA均匀滴加到细胞表面, 孵育30分钟, 孵育期间经常摇动培养板以保持所有细胞湿润				
添加细胞培养液量	1.7ml	0.4ml	3.5ml	6ml
添加氯喹溶液量(选做)	17 μ l	4 μ l	35 μ l	60 μ l
细胞培养箱内培养不超过2.5小时或出现细胞毒性前更换培养液, 继续培养48-72小时				

注1: 对于六孔板中一个孔的细胞, DNA用量可以在1-3 μ g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。

注2: 对于其它培养板或培养器皿, 各种试剂的用量可以大致按照细胞培养面积按比例进行换算。

- 去除细胞培养液, 用PBS或HBSS室温洗涤两次, 每次3-5分钟。
- 去除洗涤液, 加入1ml经10倍稀释的DEAE-Dextran溶液, 室温孵育9分钟。
- 去除稀释的DEAE-Dextran溶液, 用PBS或HBSS轻轻洗涤细胞两次。洗涤时要特别小心, 经DEAE-Dextran预处理后贴壁细胞容易脱落。
- 去除洗涤液, 把步骤2d准备的162 μ l含有2 μ g DNA的1XPBS溶液, 均匀滴加到细胞表面。
- 细胞培养箱内孵育30分钟, 孵育期间经常摇动培养板以保持所有细胞湿润。
- 参考上表, 每孔缓慢加入1.7ml细胞培养液(约稀释的DNA体积的10倍)。
- 选做: 参考上表, 每孔加入17 μ l氯喹溶液。氯喹溶液可以和上一步骤中1.7ml细胞培养液预先混合后一起加入。加入氯喹后, 在4小时内或出现明显的细胞毒性前必须更换新鲜细胞培养液。氯喹的具体处理时间, 对于不同的细胞需根据实验操作结果进行确认。
- 通常转染后48-72小时可以检测转染效果。

常见问题：

1. 转染效率低或几乎没有转染。

很多时候是由于过多细胞死亡导致。可以考虑适当减少DEAE-Dextran溶液的用量，或适当缩短细胞暴露于DEAE-Dextran的时间；减少氯喹溶液的处理时间；一些对DEAE-Dextran特别敏感的细胞，在转染时可以适当增加细胞密度。优化DNA的用量通常可以获得较高的转染效率。另外，确保DNA的纯度，例如确保A260/A280>1.8，可以改善转染效率。

2. 转染效率不稳定。

如果有支原体污染通常会导致转染效率不稳定，此时只需更换没有污染的细胞就可以了。另外，细胞生长状态不佳，也容易导致转染效率显著下降。

使用本产品的文献：

1. Guo L,Tan K,Luo Q,Bai X.Dihydromyricetin promotes autophagy and attenuates renal interstitial fibrosis by regulating miR-155-5p/PTEN signaling in diabetic nephropathy.BOSNIAN J BASIC MED. 2019 Oct 31
2. Zaibing Li,Jingyu Li,Liyan Liu,Wenyi Deng,Qingrong Liu,Ruofan Liu,Wen Zhang,Zaiqing He,Lei Fan,Yingzhuo Yang,Yun Duan,Huifang Hou,Xinyuan Wang,Zhimei Yang,Xiaoying Wang,Shanze Chen,Yi Wang,Ning Huang,Junli Chen.Structural Insight into the Mechanism of 4-Aminoquinolines Selectivity for the alpha2A-AdrenoceptorDRUG DES DEV THER. 2020 Jul 3;14:2585-2594.;doi: 10.2147/DDDT.S214157

Version 2021.09.01