



Sunma

梭华-Sofast[®] 转染寡核苷酸操作规程

1. 介绍

梭华-Sofast[®]是新一代的阳离子聚合物基因转染试剂，梭华-Sofast[®]具有高效率转染所必备特征，梭华-Sofast[®]能与带阴离子的反义寡核苷酸形成稳定的复合物，形成的复合物通过内吞等作用进入细胞内，并释放出反义寡核苷酸，后者选择性抑制或调节基因表达。梭华-Sofast[®]的细胞毒性很低，而且与其它转染试剂相比，梭华-Sofast[®]很稳定，不被血清清除，使得基因转染的操作简便易行，重复性好。

2. 储存

5.0mg/ml。梭华-Sofast[®]在室温下运输，试剂到达时请即存放于+4℃处，在+4℃可存放一年。使用前请轻轻摇匀。

3. 转染操作规程(贴壁细胞的转染)

3.1 细胞接种

为了获得最好的转染效率，细胞密度应该 50-80%，这因细胞株的不同而变化，对最常用的细胞株建议细胞密度 60-70%。对于 24 孔板，最理想条件是在转染前 18-24 小时，每孔接种 8×10^4 - 2.0×10^5 个细胞。然而，在多数情况下，如果在细胞贴壁后(接种几小时后)即进行转染，也可以得到相近的结果。对细胞毒性不敏感的细胞株可在细胞接种后立即进行转染。表 1 列举了不同细胞培养装置的推荐细胞数量。

表 1. 不同细胞培养装置的推荐细胞数量

细胞培养装置	每装置面积 (mm ² /孔或皿)	细胞数量	细胞培养液总体积 μl/孔或皿
96 孔板	50	$1.5-5.0 \times 10^4$	100μl
48 孔板	100	$3.0 \times 10^4 - 1.0 \times 10^5$	200μl
24 孔板	200	$8.0 \times 10^4 - 2.0 \times 10^5$	500μl
12 孔板	401	$1.6-4.0 \times 10^5$	1.0 ml
6 孔板	962	$3.0-8.0 \times 10^5$	2.0 ml
35mm 培养皿	962	$3.0-8.0 \times 10^5$	2.0 ml
60mm 培养皿	2827	$1.0-2.5 \times 10^6$	6.0 ml
100mm 培养皿	7854	$2.5-6.4 \times 10^6$	10.0 ml

3.2 梭华-Sofast[®]/寡核苷酸复合物的制备(以 24 孔板转染为例)

3.2.1 0.5μg 寡核苷酸质粒稀释于 30μl 不含血清和抗菌素的 DMEM 中，轻轻混匀。

注: opti MEM (Invitrogen)、PBS 缓冲液或 150mM NaCl 也能用于稀释寡核苷酸和转染试剂。

3.2.2 1-1.5μl 梭华- Sofast[®] 稀释于 30μl DMEM 中, 轻轻混匀。

3.2.3 30μl 梭华- Sofast[®] 稀释液滴加到寡核苷酸稀释液中, 一边滴加一边混匀。

注意: 两种溶液的混合顺序对转染结果非常重要, 切勿颠倒滴加顺序。

3.3 室温孵育 15-20 分钟。

3.4 60μl 梭华- Sofast[®]/寡核苷酸 复合物加到每孔中并轻轻摇动使均匀混合。

3.5 放置 37°C CO2 孵育箱孵育 24-48 小时后, 分析基因表达情况。

*悬浮细胞转染

在细胞种植 1 小时后, 以同样方法加入梭华-SofastTM/寡核苷酸复合物, 轻轻摇动使均匀混合, 继续孵育 24-48 小时后, 分析基因表达情况。

表 2. 寡核苷酸数量与梭华- Sofast[®] 用量配比

寡核苷酸数量 (ug)	梭华- Sofast [®] 体积 (ul)
20-mer	
0.5	1 – 1.5
1	2 – 3
2	3 – 6
4	7 – 9
6	10 – 14
40-mer	
5	2 – 3
10	4 – 6
20	8 – 10
40	18 – 20

4. 问题与解决方法

问题	评论与建议
转染效率低	<ol style="list-style-type: none"> 1. 优化用于转染的寡核苷酸用量 2. 细胞生长状态欠佳—建议保证细胞密度和形态是最佳的。 3. 梭华- Sofast[®]/寡核苷酸比率未优化—优化梭华- Sofast[®]/寡核苷酸比率 (重量比从 16:1 到 4:1)。
细胞毒性太大	<ol style="list-style-type: none"> 1. 接种前, 细胞的健康状况直接影响细胞毒性。 2. 基因转染时细胞密度不合适会引起细胞毒性。 3. 保持梭华- Sofast[®]/寡核苷酸比率的同时减少寡核苷酸的数量。 <p>对某些敏感的细胞株减少梭华- Sofast[®]/寡核苷酸复合物的培养时间。</p>

5. 质量保证

太阳马生物工程有限公司对梭华- Sofast[®]基因转染试剂的每批产品实行严格质量检验, 并进行转染验证, 以确保其产品质量, 提供技术支持。如该试剂存在质量问题, 而非操作不当造成, 本公司将免费提供更换或退回货款。请用户使用前务必认真阅读本手册。