

WelFect Transfection Reagent

Catalog Number
TR 006-01 (1ml)
 Storage Temperature 4°C (Do not freeze)

제품설명

WelFect Transfection Reagent는 고효율의 transfection이 가능한 cationic liposome으로 구성되어 있습니다. 본 제품은 특히 sterility test, performance test, mycoplasma test, endotoxin test 등의 철저한 품질관리를 통해 출고되므로 안정적이고 재현성 있는 실험을 할 수 있습니다.

[Transfection 가능 횟수, well 기준]

Cat. No.	6-well plate (DNA 1µg 사용 시)	24-well plate (DNA 0.4 µg 사용 시)
TR 006-01	200	400

구성

Cat. No.	WelFect	Protocol
TR 006-01	1.0 ml	1 EA

화학적 위험

본 제품에 포함되어 있는 모든 용액은 인체에 유해한 화학물질로 구성되어 있으므로 피부접촉, 흡입 또는 먹지 않도록 주의하여 주시기 바랍니다. 실험과정 동안 gloves 착용 등의 안전을 위한 일반적인 예방 조치를 하시길 권장하며, 만약 용액에 접촉되었을 경우 깨끗한 물로 15분 이상 세척하시고, 먹거나 흡입하였을 경우 구토한 후 전문의사에게 문의하시기 바랍니다. 또한 본 제품은 실험용 목적으로만 제한되어 있으므로 진단용 목적으로 사용을 금하여 주시기 바랍니다.

보관 및 안정성

본 제품의 보관 온도는 4°C이며, ice-pack이 포함된 용기에 배송됩니다. 제품을 받으시는 즉시 바로 4°C에서 보관하여 주시기 바랍니다. 특히 냉동될 경우 transfection 효율이 현저하게 저하되므로 유의하여 주시기 바랍니다. 또한 무균시험을 거친 무균 제품이므로 반드시 무균 환경 하에서 개봉 및 사용하여 주시기 바라며, 실험 전후에 용기를 완전히 밀폐시켜 주시기 바랍니다.

주의

For In Vitro Use Only

실험방법

- 24 well plate 사용 기준으로 작성되었습니다.
- 기본적으로 일반적인 transfection protocol과 동일합니다.
- 보다 정확한 transfection을 위해서 혼합 시 polystyrene계 tube를 사용하시고 최대한 tube의 기벽에 묻지 않도록 유의하여 주시기 바랍니다.
- 점착성 (adherent) 세포와 부유성 (suspension) 세포의 경우, 효율적인 transfection을 위해 세포를 준비하는 과정이 다릅니다. 세포의 성장 형태에 따라서 방법을 구분하여 설명하였습니다.
- 점착성의 세포의 경우 <A. Adherent cells> 방법으로, 부유성 세포의 경우 <B. Suspension cells>의 방법으로 할 것을 권장합니다.

A. Adherent cells (점착성 세포)

1. [Cell culture] Transfection 전날 2 ~ 6 x 10⁴ cell/ml로 seeding하여 실험 당일 confluence가 60 ~ 80% 정도가 되도록 배양한다.

2. [Medium Exchange] 실험당일 plate상의 기존 growth medium을 제거하고 혈청과 항생제가 포함되어 있지 않은 serum free medium (TOM medium, PBS도 가능) 등으로 한번 세척한 후, 0.3 ml serum free Transfection Medium (TOM medium, Cat. No.: **TR 004-01** 사용 권장)으로 교환하여 CO₂ 배양기에 넣어둔다 (* note 1, 2).

B. Suspension cells (부유성 세포)

1. [Cell harvest] Transfection 당일 부유성 세포를 원심분리 하여 적절한 용기에 수집한다.

2. [Medium Exchange] 수집된 세포는 TOM medium등과 같은 혈청과 항생제가 포함되어 있지 않은 serum free medium (PBS 가능) 등으로 한번 세척한다. 세척된 세포 pellet에 적절한 양의 Transfection Medium (TOM medium, Cat. No.: **TR 004-01** 사용 권장)을 첨가하여 원하는 농도 (1~3 x 10⁶ cells/ml)로 세포수를 맞추어서 plate를 CO₂ 배양기에 넣어둔다 (* note 2).

*note 1: 민감한 세포주의 경우, medium 교환 없이 다음 과정으로 진행할 수 있으나 transfection 효율이 50% 정도 감소될 수 있음.

*note 2: 일부 serum-free media의 경우 cationic lipid-mediated transfection을 방해할 수도 있으므로 사전 검증이 필요함. TOM medium이나 기존 transfection에 사용하고 있는 serum-free medium이라면 사용해도 무방함.

3. [DNA dilution] 적절한 tube에 전달하고자 하는 DNA (Table 1, 2 참조)를 혈청이 포함되지 않은 50 µl Transfection Medium에 첨가하여 희석한다.

4. [Lipid dilution] WelFect (Table 1, 2 참조)를 혈청이 포함되지 않은 50 µl Transfection Medium에 첨가하여 희석한다.

5. [Mixing & complex forming] 3 번 과정의 DNA 희석액과 4 번 과정의 WelFect 희석액을 혼합한 후, 상온 (또는 4°C) 에서 10 ~ 15 분간 반응시킨다.

*note: DNA size가 크거나 고농도의 DNA를 사용할 경우 4°C에서 반응 시 효율이 증가할 수 있다.

6. [Transfection] 5번 과정의 DNA + WelFect 최종 혼합액 (약 100 µl)을 각 well에 첨가하고 조심스럽게 혼합한 후, CO₂ 배양기에서 세포를 배양한다.

7. [Cell Culture] 3 ~ 6 시간 후, 각 well에 혈청이 포함된 complete medium으로 교환하거나 추가적으로 첨가한 후, 배양을 계속한다.

*note: 별도의 washing과정 없이 혈청이 포함된 growth medium을 첨가한다.

8. [Assay] Transfection 후, 8 ~ 48 시간 경과 후 추가실험을 진행한다.

[Table 1. 최초 사용 권장량]

Culture ware	DNA (μg)	Dilution Medium (μl)	WelFect (μg)	Dilution Medium (μl)
96 well	0.1	25	0.5	25
48 well	0.2	50	1	50
24 well	0.4	50	2	50
12 well	0.8	50	4	100
6 well	1.5	100	7.5	100
60 mm	3	100	15	100
100mm	6	200	30	200

[Table 2. 최적화를 위한 사용범위]

Culture ware	Surface Area (cm ²)	DNA (μg)	WelFect (μg)
96 well	0.3	0.02-0.2	
48 well	0.7	0.04-0.4	
24 well	2	0.1-1.0	
12 well	4	0.2-2	DNA량의 2-6배
6 well	10	0.5-5.0	
60 mm	20	1-10	
100 mm	56	3-30	
150 mm	140	7-70	

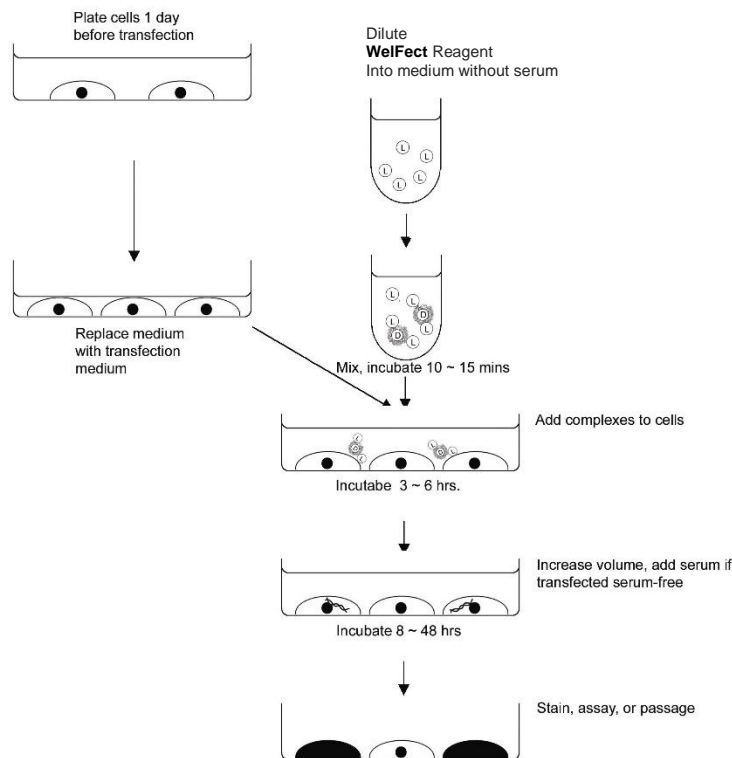
* 일반적으로 사용되는 배양용기 기준

* 무게비 기준 (WelFect: 1 mg/ml)

* 최초 transfection 수행 시 DNA:WelFect의 사용비는 1:5로 수행하며, Table 2에 따라 사용량을 가감하여 transfection을 최적화하실 수 있습니다.

* 각각의 step에서 DNA, WelFect 가 0.1 μg 이하인 경우 15 μl medium, 2 μg 이하인 경우 50 μl medium, 2 μg 이상인 경우 100 μl medium의 사용을 권장합니다.

[The Schematic diagram of Transfection process]



Technical Tips

1. DNA Quality: Plasmid DNA 벡터 조제는 Midi-나 Maxi-Prep. 이상을 권장합니다. Mini-prep. 으로 얻은 DNA는 transfection 효율이 현저히 저하됩니다.
2. 정확한 DNA 농도: 흡광도 (O.D.)에 의한 정량은 buffer 등의 여러 원인에 의해 DNA 농도에 대한 오류 발생 소지가 있습니다. 보다 정확한 transfection 실험을 위해서는 반드시 agarose gel 상에서 DNA 농도를 확인하시길 권장합니다.
3. 권장량 이상의 DNA 사용은 오히려 transfection 효율이 감소 (특히 Co-transfection)됩니다. 고정된 DNA 양을 기준으로 Liposome 및 Enhancer 양을 증감하면서 효율을 비교하여 최적화하시길 권장합니다.
4. Serum이 없는 상태에서 transfection을 수행할 경우에는 TOM media (TR 004-01)와 같이 serum이 없어도 세포의 성장이 이루어지는 serum free media를 사용할 경우 효율이 증가합니다.
5. Cell washing: 293와 같이 민감한 세포주는 washing 단계에서 다수의 세포가 소실됩니다. 따라서 seeding에 사용되었던 media를 제거하지 말고 동량의 washing 용 media (TOM medium)를 세포에 첨가한 후 suction 및 washing과정을 거치면 비교적 세포가 안정적 됩니다.
6. 제품을 최초로 사용할 때나 장기간 보관 후 사용할 때는 Liposome 및 Enhancer가 들어있는 tube를 충분히 tapping하기를 권장합니다. 그리고 뚜껑 부분에 내용물이 남아 있을 경우, 살짝 spin down하거나 tube를 위에서 아래로 떨어 용액이 모두 아래쪽으로 위치하도록 한 후, 사용해 주시기 바랍니다 (Evaporation에 의한 이슬 맺힘 현상으로 농도가 달라질 수 있음).
7. 소규모의 실험으로 transfection을 최적화하는 과정을 거친 후, 동일한 기준으로 배양용기의 부피 (세포수)에 따라 scale-up하시면 보다 효율적인 transfection을 하실 수 있습니다.