

Transfection 효율을 높이는 방법

효과적인 transfection을 위한 TransIT[®]-LT1의 사용방법

■ Cell Confluency

Transfection 효율을 극대화 하기 위해서는 분열증식을 활발하게 진행하고 있는 세포군을 사용해야 한다. Transfection시에 cell confluency가 50~70%가 되도록 transfection 실험 전날 밤에 세포를 플레이팅하는 것을 권한다.

■ Complex formation

Complex formation 시간을 최적화 하자. DNA와 transfection reagent를 혼합한 후, 혼합물을 세포에 넣기 전에 complex가 형성될 수 있도록 15~30분 정도 상온에 두어야 한다. 최소 15분 정도로 complex가 형성될 수 있도록 하였을 때 gene expression이 최대화 되는 것을 관찰하였다.

■ 사용하고 있는 Serum-Free Media 가 Active Transfection Complexes를 형성하는지 확인하자!

혈청이 결핍된 표준 동물세포 배양배지는 대부분이 active TransIT[®]-LT1 Reagent/DNA transfection complexes를 형성시키기 위해 사용될 수 있음에도 불구하고, 몇몇 혈청 결핍 배지가 active transfection complexes 형성을 저해하는 것을 발견했다(그림 1). 따라서, Opti-MEM[®] 이외의 혈청 결핍 배지가 사용된다면, active transfection complexes을 형성할 수 있는 배지를 확인하는 것이 중요하다. 그림 1에서 보는 바와 같이, HEK 293, CHO-K1, NIH3T3 같은 표준 부착 세포주나 연구자들이 transfect시키는데 성공한 세포주 등을 사용하여 확인할 수 있다.

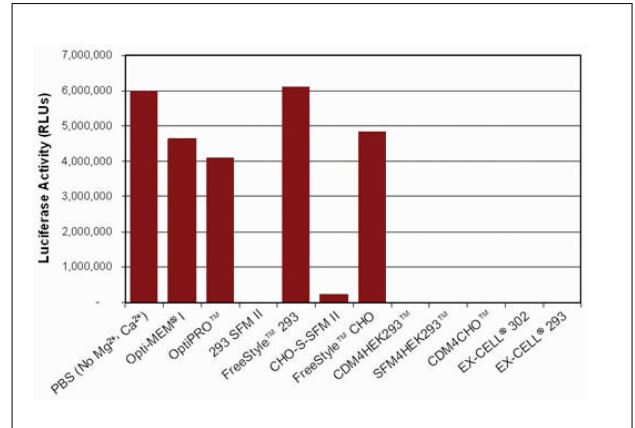


그림 1. Many Serum Free Suspension Cell Culture Media Do Not Support Formation of Active TransIT[®]-LT1 Reagent/DNA Transfection Complexes, Transfection complexes were formed according to the TransIT[®]-LT1 protocol in the indicated growth media lacking serum using 3 μ l of TransIT[®]-LT1 Reagent and 1 μ g of a luciferase expression plasmid. The complexes were added to adherent NIH 3T3 cells in 12-well plates containing complete growth media and incubated at 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂. Twenty-four hours post-transfection, the cells were harvested and assayed for luciferase activity.

■ TransIT[®]-LT1 Reagent와 DNA의 양을 증가시켜 Suspension 세포의 transfection 퍼포먼스를 최적화 하자!

부유 세포의 transfection 시에는 최적의 결과를 얻기 위해서 사용되는 DNA와 TransIT[®]-LT1 Reagent 양을 증가하는 것이 필요할 수 있다. 예를 들어, 일반적인 부착 세포를 12-well plates 에서 1 ml 부피로 배양할 경우, 1 μ g의 DNA 와 3 μ l의 TransIT[®]-LT1 Reagent를 사용할 것을 권장하고 있다. 이와 동일한 양의 DNA 와 Reagent를 바로 부유세포에 적용해서는 최적의 결과를 얻지 못할 수 있다. 부유세포 배양 배지 당 DNA 와 TransIT[®]-LT1 Reagent 양을 각각 3 μ g 과 9 μ l로 증가시킴으로 인해 향상된 transfection 결과를 얻을 수 있다. 그러나, 세포주, 세포 밀도, 그리고 배양조건에 따른 transfection 조건을 최적화하는 것이 중요하다.

■ 관련제품

제품명	Size	TaKaRa Code
TransIT [®] -LT1 Transfection Reagent	1 ml	V2300
	0.4 ml	V2304T
	5 \times 1 ml	V2305T
	10 \times 1 ml	V2306T