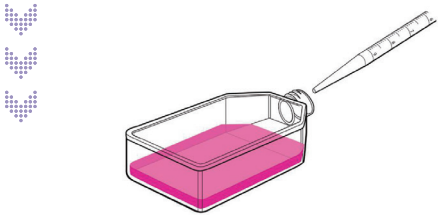


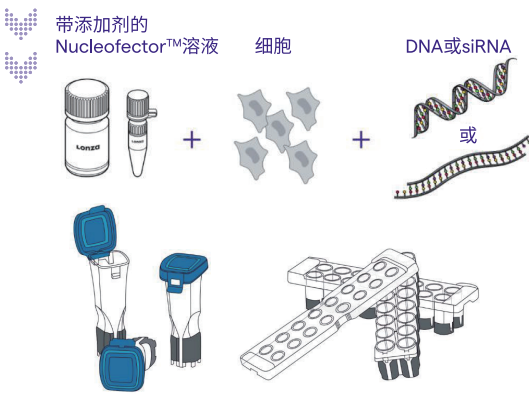
Nucleofector™电转仪快速操作指南

Nucleofection™电转染操作流程

1 获取目标细胞



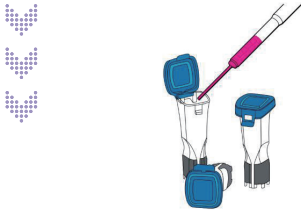
2 混合细胞、底物及Nucleofector™溶液, 转移至Lonza认证的电转杯或电转板条中



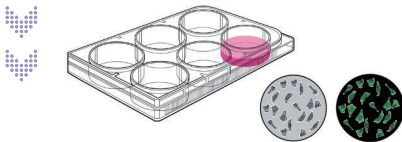
3 选择Nucleofector™程序, 放入电转耗材, 按下开始按钮



4 用培养基将电转耗材的细胞转移出来



5 转移至培养皿中, Nucleofection™电转后3-8小时即可检验



转染效果不佳-实验问题排查

若4D-Nucleofector™系统实验没有取得预期结果, 以下故障排除指南可能会有帮助。这些注解旨在帮助优化实验条件。如果您需要进一步的帮助, 请联系我们的科学支持团队:

techsupport.bioscience.china@lonza.com

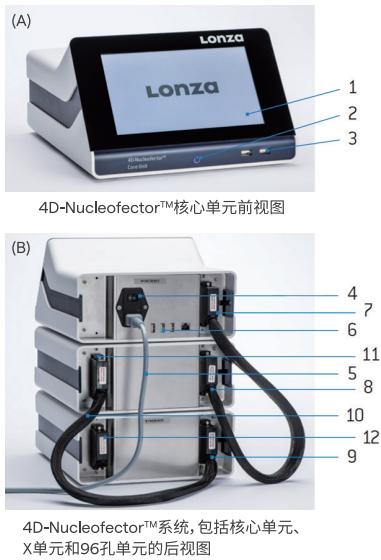
问题	可能的错误	解决方案
细胞活率低	细胞在Nucleofector™试剂中保存时间过长	按照优化方案的建议, 立即将细胞转移到预热的培养基中。
	细胞收获或处理过程中受到损伤	在细胞收获过程中避免恶劣条件, 特别是以高速度离心或过度暴露于胰蛋白酶。更温和地吸取细胞, 尽可能减少物理剪切力对细胞的影响, 按照优化方案中的建议使用塑料移液器或宽口枪头。
	细胞培养条件不理想	细胞应该是有活力的并且可以培养几代。避免细胞密度过高或细胞融合, 因为这可能会降低Nucleofection™程序后的细胞活力。有关更多细节, 请参阅专用的优化协议。
	耗材的重复使用	强烈建议一次性使用Nucleofection™耗材, 因为所施加的高压脉冲会极大地影响到它们的物理完整性。
	DNA质量差	用于Nucleofection™实验的DNA应具有高纯度。我们强烈建议制备无内毒素的DNA。不要使用涉及苯酚/氯仿处理的程序。
效率低	DNA浓度过低	根据细胞类型和Nucleofection™容器, 建议每个样本有一定的DNA量(详情请参考各自的优化方案)。如果转染效率和细胞死亡率都较低, DNA数量就可以增加。增加DNA量可能导致更高的转染效率, 但同时导致更高的细胞死亡率。
	Nucleofection™样本中的细胞数量过高或过低	请使用专用优化协议中推荐的细胞数量。
	DNA质量差	用于Nucleofection™实验的DNA应具有高纯度。我们强烈建议制备无内毒素的DNA。不要使用酚/氯仿进行DNA抽提。

提高电转染效率的小技巧

- 准备好加了新鲜培养基的多孔板, 并在实验前于37°C下**预平衡**
- 使用**传代次数少**并具有**推荐融合度**或**密度** (对数生长期) 的细胞
- 针对于贴壁细胞, 需限制**胰蛋白酶**暴露时间, 仔细监测细胞分离情况
- 根据优化方案进行细胞计数并使用适量细胞数; 所用**细胞过少**可能导致细胞死亡率增加, 所用**细胞过多**可能导致细胞电转效率降低
- 采用高质量DNA, 使用**内毒素去除**试剂盒进行纯化; 请通过测定A260:A280比值检查各质粒制备液的纯度
- 室温下以离心速度**80-100×g**和方案**规定的时间**进行离心
- 离心后加入Nucleofector™溶液, 混匀溶液/细胞沉淀制备成单细胞悬液, **避免对细胞沉淀进行额外操作或用移液器枪头重复抽吸**
- Nucleofection™核转后, 用核转试剂盒内配的一次性移液管在电转耗材中的细胞顶部加入约500μL**预热培养基**
 - **轻轻**将一次性移液管吸头置于电转耗材底部, 收集细胞
 - 将细胞悬液**轻轻**接种至制备的多孔板中
 - **请勿重复吹吸**混合细胞

仪器部件及功能区域

- 触摸屏(系统的图形用户界面)
- 电源开关LED
- USB端口(用于U盘)
- 带有主电源开关和保险丝的电源线插座
- 电源线
- USB接口
- 连接功能单元的龙沙接口出口端
- 连接功能单元的龙沙接口进口端
- 最后一个功能单元的龙沙接口进线端
- 连接到出、进口端的龙沙接口电缆
- 功能单元的龙沙接口出口端
- 最后一个功能单元的龙沙出口端, 带终端插头



4D-Nucleofector™系统故障排除指南

电转孔颜色代码

若4D-Nucleofector™系统实验没有取得预期结果, 以下故障排除指南可能会有帮助。这些注解旨在帮助优化实验条件。如果您需要进一步的帮助, 请联系我们的科学支持团队: techsupport.bioscience.china@lonza.com

	参考文件	结果文件, ok	结果文件, 警告	结果文件, 错误	跳过孔
未定义					
样品					
无程序					
无DNA					

仪器使用或维护的注意事项

安全说明

- 该符号表示有电击危险。电击可能导致死亡或人身伤害
- 请在阅读4D-Nucleofector™手册后使用该系统 (该手册对所有用户开放)
- 4D-Nucleofector™系统已通过国际安全标准的认证, 按照本手册操作, 即可安全使用



设备维护

4D-Nucleofector™系统只需些许维护就可保证其可靠运行。在清洁和消毒外箱之前, 请拔掉电源插头。用湿布蘸水或70-80%的乙醇擦拭外箱。避免使用任何气雾剂进行清洁。避免弄湿电转容器托盘支架和设备背面连接器。

无论是否有紫外线辐射源, 4D-Nucleofector™系统均可在生物安全柜下使用。外箱长时间暴露在紫外线下, 可能会导致Nucleofector™设备变色, 但不会导致功能受损。若长时间暴露在紫外线下, 应将设备从生物安全柜里取出。

废弃物处理

将电转容器、废弃枪头和Nucleofector™试剂放在生物危险品容器中处理。请参考您当地的废物管理机构和相关实验室安全说明, 以知晓正确处理办法。



Nucleofector™错误代码解释、电转优化条件、如何开始实验等更详细内容请扫码查询