



## 高效真核转染试剂

### ( Vigofect )

#### 产品说明:

本试剂采用一类阳离子非脂性物质为主的配方，可以与DNA形成稳定的复合物，透过细胞膜进入细胞内，并保护DNA免受核酸酶的降解。该试剂对细胞毒性很小，可在含血清与抗生素的完全培养液中充分发挥作用。对多数培养细胞种类都有较高的转染效率（不同种类细胞的转染效率可有明显差异）。此类试剂是目前非病毒介导方法中效率最高的转染试剂。

#### 产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
Vigofect	0.4 ml	4℃

可进行200次转染（6孔板或35 mm平皿）。常温运输，4℃保存。有效期6个月。

#### 所需其它试剂:

使用者需准备150 mM NaCl（超纯水配制，高压或过滤灭菌）或注射用生理盐水作为Vigofect及DNA的稀释液，和要转染的DNA溶液（高纯度，浓度0.1~2 μg/μl）。

#### 操作方法:

##### 准备培养细胞:

- 1) 转染前24小时，接种适量细胞（接种数量可参考附表）。至转染时细胞密度以40~60%为宜（80~90%亦可）。
- 2) 转染前1小时，更换新鲜的完全培养液（体积可参考附表），置37℃，5% CO<sub>2</sub>培养。

##### 配制转染工作液:（6孔板或35 mm平皿，2 ml培养液）

- 3) 取5~8 μg DNA（起始用量5 μg），加入稀释液中至总体积为100 μl，轻轻混匀，室温放置。
- 4) 取Vigofect 1~4 μl（起始用量2 μl），加入稀释液中至总体积为100 μl，轻轻混匀，室温放置5分钟。
- 5) 将稀释的Vigofect逐滴加入稀释的DNA溶液中，轻轻混匀，所得的转染工作液在室温放置15分钟。
- 6) 将转染工作液轻轻混匀，逐滴加入2 ml培养液中，轻轻混匀培养液，置37℃，5% CO<sub>2</sub>培养。

##### 细胞后续处理:

- 7) 24~48小时后，观察或收取细胞。
- 8) 稳定转染时，于转染后24~48小时消化细胞分至3~5个培养皿中，加适当浓度的相应抗生素（如G418）筛选。

### 注意事项：

- 1) 少量使用Vigofect时，可取精确量的Vigofect用无菌超纯水稀释一定倍数，以便精确取样量。该稀释液可在4℃保存1月左右。
- 2) 细胞的生长状态是转染效率的一个主要决定因素。在实验条件许可的情况下，使用高质量的培养液、优质血清等，可能会明显提高转染效率。
- 3) DNA和Vigofect的混合比例，决定了形成复合物的颗粒大小和性质；复合物颗粒的大小和性质，对细胞的DNA吸收能力有重要影响。不同细胞达到最佳转染效率，所需复合物的颗粒大小、性质和数量，可能又有微小或很大差异。

### 提高转染效率的方法：

- 1) 使用高质量、高纯度的质粒DNA。
- 2) 转染时细胞应处在生长旺盛状态。
- 3) 从起始用量开始，调整配制转染液中DNA和Vigofect的用量（保持转染工作液总体积不变），以确定不同细胞的最佳转染条件。一般固定DNA用量（5 μg），与系列含量的Vigofect混合，选取Vigofect的最佳用量；也可固定Vigofect用量（2 μl），与系列含量的DNA混合，选取DNA的最佳用量。
- 4) 进一步减少转染时培养液体积（转染后6~16小时再补加足量培养液）。
- 5) 如有可能，且细胞可以耐受，可将培养容器在加入转染工作液后立即250 g离心5 min。

### 降低细胞毒性的方法：

通常本转染试剂对细胞的毒性很低。如个别种类细胞对本转染试剂特别敏感，可通过以下方法降低细胞的毒性反应。

- 1) 确保质粒DNA无杂质污染。
- 2) 检查表达蛋白对细胞是否有毒性。
- 3) 增加转染时培养液体积，或略减低转染工作液的用量。
- 4) 转染后3~6小时去除含转染液的培养液，更换为新鲜的完全培养液。
- 5) 转染时细胞密度不能过低。

**表：建议的起始转染条件。**

培养容器	转染前一天接种细胞数	转染时培养液体积	DNA用量与稀释后体积		Vigofect用量与稀释后体积	
			μg	μl	μl	μl
96孔板	1-1.5	0.1	0.25	5	0.1	5
24孔板	5-10	0.5	1.25	25	0.5	25
6孔板	20-40	2	5	100	2	100
35mm平皿	20-40	2	5	100	2	100
60mm平皿	40-60	4	10	200	4	200