

EndoFectin™-Lenti 转染试剂

用于转染核酸到哺乳动物细胞

产品套装编号: **Z0102**

产品编号 包装规格

| | |
|---------------|-------|
| Z01020A | 1mL |
| Z01020B | 0.5mL |
| Z01020C (A*5) | 5 mL |

储存条件: 4°C – 8°C 保存

■ 产品概述:

EndoFectin™ Lenti 转染试剂是一种具有专利的阳离子聚合物试剂, 它能与核酸形成复合物, 并使该复合物进入哺乳动物细胞。EndoFectin™ Lenti 转染试剂专为转染HEK293T, 并包装慢病毒颗粒而设计。即使在有血清存在的情况下, 它仍然能高效的将核酸导入细胞。

GeneCopoeia 公司提供的 EndoFectin™ Plus 转染试剂有如下优点:

- 优越的转染效率
- 重组蛋白的高表达水平
- 与含血清的培养基相兼容
- 低细胞毒性
- 易于操作

■ 成分及储存条件:

- 每管含有经过滤除菌的EndoFectin™ Lenti 转染试剂
- EndoFectin™ Lenti 转染试剂 可于常温下运输。4-8°C密闭保存。该试剂在4-8°C的条件下, 可保持稳定至少12个月。

■ 质量控制:

每批EndoFectin™ Lenti均经过转染测试。我们将eGFP 表达质粒(GeneCopoeia Catalog No. EX-EGFP-Lv01)用EndoFectin™ Lenti转染试剂转入subconfluent HEK-293 细胞。转染16小时后, 超过95%的细胞表达eGFP。

■ 实验开始前的注意事项:

质粒的质量: 请务必使用高质量转染级无内毒素的质粒。通过260nm光吸收测定DNA浓度, 260nm/280nm 比值确定DNA纯度(比值应该在1.8~2.0的范围之内)。如有可能, 请通过琼脂糖凝胶电泳检测质粒的完整性。

细胞的条件: 使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保培养基没有被细菌, 真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞, 请在转染前至少传代两次。

■ 瞬时转染方法:

1. 接种细胞¹

转染前一天, 用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度, 将细胞铺入细胞培养的器皿, 总体积如表1所示。每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到70~80%。

2. 准备DNA/EndoFectin™复合物

DNA, EndoFectin™试剂, 和稀释剂在进行以下步骤前需先使其升至室温。

依据表1所示, 用Opti-MEM I™ (Invitrogen)或其他适合的无蛋白培养基稀释适量DNA。用同样的培养基稀释EndoFectin™试剂。每1µgDNA需用3.0µl EndoFectin™试剂。

一边轻轻涡旋装有DNA溶液的试管, 一边将稀释的EndoFectin™试剂滴加至试管中(注意: 请勿颠倒添加顺序)。当溶液体积较大时, 请用圆底聚丙烯管如Falcon® 5 ml/14 ml管。

表1. 转染贴壁细胞的建议初始条件

| Culture Vessel | Surface Area (cm ²) | Volume of medium | Total amount of DNA per well | DNA dilution Volume | Ratio of EndoFectin (ml) to DNA (µg) | EndoFectin dilution Volume |
|--------------------------|---------------------------------|------------------|------------------------------|---------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| 96-well plate (one well) | 0.3 | 100 µl | 10-200 ng | 10-20 µl | 3:1 | 10-20 µl |
| 24-well plate (one well) | 1.9 | 0.5 ml | 0.1-1.25 µg | 25-50 µl | 3:1 | 25-50 µl |
| 12-well plate (one well) | 4.0 | 1.0 ml | 0.2-2.5 µg | 25-100 µl | 3:1 | 25-100 µl |
| 6-well plate (one well) | 9.3 | 2.0 ml | 0.4-6 µg | 50-200 µl | 3:1 | 50-200 µl |
| 35-mm dish | 7.5 | 2.0 ml | 0.3-5 µg | 50-200 µl | 3:1 | 50-200 µl |
| 6-cm dish | 21.0 | 5.0 ml | 1-12 µg | 0.2-0.5 ml | 3:1 | 0.2-0.5 ml |
| 10-cm dish | 49.0 | 10 ml | 2.5-30 µg | 0.5-1 ml | 3:1 | 0.5-1 ml |

3. 转染细胞

直接向每个孔中加入DNA-EndoFectin™复合物并轻轻涡旋培养板/培养皿。

在无血清条件下转染时, 去除生长培养基, 替换成无血清培养基, 然后滴加DNA-EndoFectin™复合物。转染3h后, 添加½体积的包含30%血清的生长培养基。

4. 孵育细胞和分析结果

在CO₂ 培养箱中37℃ 孵育细胞至可以分析检测。转染后最快7h即可检测到转入基因的表达。请自行确定最适检测时间。

■ 稳定转染方法:

以上步骤同样适用于稳定转染。

转染24h后, 将细胞传代至新鲜的生长培养基中(将细胞稀释10倍以上), 在CO₂ 培养箱中37℃ 孵育过夜。第二天加入与转染抗性基因相匹配的筛选药物。

约1~2周可筛选到耐药性克隆, 在这期间需经常更换含筛选药物的生长培养基。

特别提醒:

1. 对于某些类型的细胞如HEK-293, HEK293T, NIH/3T3, 及COS细胞, 在转染前两天铺板可显著提高转入基因的表达水平。如果选择转染前两天铺板, 请相应的降低铺板密度, 以确保转染时细胞的汇合度仍为70~80%。
2. 对于接触抑制敏感的细胞, 可适当降低铺板密度。
3. 即使在有蛋白(如10%的血清)存在的条件下DNA-EndoFectin™复合物仍能转染细胞, 但是DNA-EndoFectin™复合物必须在无蛋白存在的条件下形成。我们推荐使用Opti-MEM I™培养基以达到最佳转染效率。其他的无蛋白培养基则需测试与EndoFectin™试剂的兼容性。
4. 对大多数细胞来说, 每1 µg DNA使用3.0 µl EndoFectin™试剂都能获得较高转染效率。使用者也可尝试每1 µg DNA使用1~4µl of EndoFectin™试剂进行优化。

该产品仅限于实验科学研究用, 若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途, 本公司概不承担任何责任。



地址: 广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器D区8楼, 510663
客服电话: 020-32068595 电子信箱: support@fulengen.com 网址: www.fulengen.com