

EndoFectin™-HepG2 转染试剂

高效转染核酸到人肝癌细胞系 HepG2

产品编号: EF005 / EF006 (EF005×3)

包装规格: 1 mL / 3 mL

储存条件: 4℃~8℃密闭保存, 可保持稳定至少 12 个月, 常温运输。

■ 产品概述

EndoFectin™-HepG2 转染试剂是基于脂质体转染原理的转染试剂, 它能与核酸形成复合物, 并使该复合物进入哺乳动物细胞。经多次测试证明, **EndoFectin™-HepG2** 可为人肝癌细胞系 HepG2 提供更高效率的转染效率。即使在有血清存在的情况下, 该试剂仍能高效将核酸导入细胞。

GeneCopoeia 公司提供的 **EndoFectin™-HepG2** 转染试剂具有如下优点:

- 对 HepG2 细胞系的转染效率更优良
- 细胞毒性低
- 适用于多种细胞系的转染操作, 操作简便
- 与含血清的培养基相兼容, 转染前不需去除细胞培养液或血清, 转染后不需清洗细胞

■ 质量控制

每批次 **EndoFectin™-HepG2** 转染试剂均经过转染测试。将 eGFP 表达质粒 (GeneCopoeia Cat.No. EX-EGFP-M02) 用 **EndoFectin™-HepG2** 转染试剂转入亚融合状态的 HepG2 细胞, 转染 16 h 后, 超过 95% 的细胞表达 eGFP。

■ 注意事项

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

保证细胞状态: 请使用适当保存和经常传代的健康细胞, 并确保培养基无细菌、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。

■ 实验材料

- EndoFectin™-HepG2 转染试剂
- Opti-MEM I™ 细胞培养液 (Life Technologies. 货号: 31985-088)
- 培养至 90~95% 汇合度的 HepG2 细胞

■ 条件摸索

在进行正式转染前, 推荐以 **EndoFectin™-HepG2** 转染试剂摸索最佳转染条件。可参考表 1 的设置, 进行转染试剂添加量的初步摸索。

您可在目标规格的细胞培养板进行摸索; 也可在 96 孔培养板中进行操作, 获最佳转染条件后, 按比例放大转染试剂用量。

Culture vessel	Surface area (cm ²)	Volume of medium	Total amount of DNA per well	DNA dilution volume	EndoFectin volume per well	EndoFectin dilution volume
96-well plate (one well)	0.3	100 µL	100 ng	5 µL	0.2 µl	5 µL
24-well plate (one well)	1.9	0.5 mL	0.5 µg	25 µL	1 µl	25 µL
12-well plate (one well)	4.0	1.0 mL	1 µg	50 µL	2 µl	50 µL
6-well plate (one well)	9.3	2.0 mL	2.5 µg	125 µL	5 µl	125 µL
3.5-cm dish	7.5	2.0 mL	2.5 µg	125 µL	5 µl	125 µL
6-cm dish	21.0	5.0 mL	5 µg	250 µL	10 µl	250 µL
10-cm dish	49.0	10 mL	15 µg	750 µL	30 µl	750 µL

表 1.转染贴壁 HepG2 细胞的建议初始条件

■ 瞬时转染方法

1. 接种细胞:

转染前一天, 用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度, 铺板培养。每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到 90~95%。

注意: 该步骤请勿使用含抗生素的细胞培养液。

2. 准备 DNA-EndoFectin™ 复合物:

静置使 DNA、EndoFectin™-HepG2 试剂和用于稀释的无蛋白培养液 (如 Opti-MEM I™) 升至室温。据表 1 所示, 以无蛋白培养液 (如 Opti-MEM I™) 分别稀释适量 DNA 和 EndoFectin™-HepG2 试剂, 稀释后室温静置 5 分钟。

充分混匀上一步稀释的 DNA 与 EndoFectin HepG2 试剂 (注意: EndoFectin™-HepG2 试剂在稀释后, 需 30 分钟内与 DNA 稀释液混匀), 室温静置 5~20 min 形成 DNA-Endofectin™ 复合物。

3. 转染细胞:

向每个细胞培养孔中逐滴添加 DNA-EndoFectin™ 复合物, 边滴加边轻柔前后晃动培养板/培养皿, 使转染试剂滴在培养液中并及时扩散, 从而避免高浓度转染试剂直接接触细胞。

4. 孵育细胞和分析结果:

在 CO₂ 培养箱中 37°C 下孵育细胞, 分析检测。一般的基因表达时间在转染后孵育 24-48 h, 请自行确定最适合的检测时间。

■ 稳定转染方法

以上步骤同样适用于稳定转染。转染 24h 后, 将细胞稀释 10 倍以上, 传代至新鲜的生长培养液, 在 CO₂ 培养箱中 37°C 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, 期间需经常更换含筛选药物的生长培养液。

■ 特别提醒

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™-HepG2 试剂的兼容性。

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。