使用说明书

GeneCopoeia Inc.
9620 Medical Center Drive, Suite 101
Rockville, MD20850, USA
Web: www.genecopoeia.com
Web (China): www.igenebio.com
Tel (China): 4006-020-200

EndoFectin™- Expi293 转染试剂

高效转染核酸到人胚肾细胞系 Expi293F™

产品编号：EF007

包装规格：1 mL

（每 1 mL **EndoFectin™-Expi293** 约可用于转染 350 mL Expi293F™ 悬浮细胞）

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™-Expi293 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，并使该复合物进入动物细胞。经多次测试证明，**EndoFectin™-Expi293** 可为悬浮细胞系 Expi293F™ 提供更高的转染效率。即使在有血清存在的情况下，该试剂仍能高效地将核酸导入细胞。Expi293F™ 是一种常用的悬浮工具细胞系，便于瞬时转染操作，可达到较高的细胞密度。

GeneCopoeia 公司提供的 **EndoFectin™-Expi293** 转染试剂具有如下优点：

- 对比 Expifectamine™ 293 (Invitrogen)，EndoFectin™ Expi293 对 Expi293F™ 细胞系的转染效率更优
- 细胞毒性低
- 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™-Expi293** 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™-Expi293** 转染试剂转入 Expi293F™ 细胞，转染 16 小时后，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。

保证良好的细胞状态：请使用保存妥当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。

■ 条件摸索

在进行正式转染前，如您使用的是 Expi293F™ 以外的其它 293 细胞系，可按梯度设置转染试剂的添加量（例如：以 30 μg DNA 质粒转染 30 mL 悬浮细胞，按梯度分别添加 40、50、60、80、100 μL 转染试剂），进行转染试剂用量的优化摸索。

■ 实验前的准备

- 准备 30 mL Expi293F™ 悬浮细胞，装载在 125 mL 锥形瓶中（您也可根据实际需要，自行调整细胞用量和对应的锥形瓶规格）；
- 推荐的最佳的转染体积约为 30mL；转染时的细胞数为 $7.5x10^7$ cells（细胞密度：$2.5x10^6$ cell/mL），

细胞存活率在 95%以上。转染前，请进行细胞计数，以确认所需转染试剂的量；

- 所需质粒 DNA 的量为 30 μg；所需 **EndoFectin™-Expi293** 转染试剂的量为 80 μL；此外，准备无血清培养液 Opti-MEM I™，用于稀释质粒 DNA 和转染试剂；
- Expi293F™ 的培养基（Invitrogen 货号：A14351）在转染前不需移除，但注意不可含有抗生素，否则会影响转染效率；
- 每次使用前，请轻柔吹打混匀 **EndoFectin™-Expi293** 转染试剂，再进行吸取。

■ 转染步骤

1. **准备数量合适的细胞**（通常情况下，每 30 mL 转染体系所需的细胞数约为 $7.5x10^7$ cells）

   (1) 在转染前一天，按 $2.0x10^6$ cells/mL 的细胞密度接种细胞，置于 37℃、含 8% CO_2 的转式恒温震荡培养箱中，以 125 rpm 转动培养；

   (2) 接种细胞后的第二天（转染操作当天），使用自动细胞计数器或台盼蓝染色排除法计算细胞密度和细胞存活率，细胞存活率需在 90%以上；根据细胞密度，计算 $7.5x10^7$ 细胞数所需的量取的细胞悬浮培养液体积；

   (3) 向每个 125 mL 一次性无菌锥形瓶添加上一步计算的细胞悬浮培养液，并添加预温的新鲜培养液，将体积补足至 25.5 mL，重新放回培养箱。

2. **准备 DNA-转染试剂复合物**

   (4) 以无血清培养液 Opti-MEM I™ 稀释 30 μg DNA 质粒至 1.5 mL，轻柔混匀；

   (5) 以无血清培养液 Opti-MEM I™ 稀释 80 μL **EndoFectin™-Expi293** 转染试剂至 1.5 mL，轻柔混匀并在室温下静置 5 分钟；（注意：室温静置孵育 5 分钟即可，时间过长易影响转染试剂的转染效力）

   (6) 5 分钟后，将稀释的 DNA 质粒加入到稀释的转染试剂中，轻柔混匀并室温静置 20-30 分钟，孵育形成 DNA-转染试剂复合物。

3. **进行转染操作**

   (7) 将上一步骤制得的 3 mL DNA-转染试剂复合物添加到步骤(3)准备的细胞悬浮培养液中；阴性对照细胞可添加 3 mL Opti-MEM I™ 无血清培养液；（此时，转染体系的体积为 28.5 mL，不需特地将体系补足至 30 mL。）

   (8) 将细胞放回培养箱，继续以步骤(1)的参数转动培养。

4. **收获表达产物**

   通常在转染 48 小时后，即可收获细胞或培养基，获得表达产物以进行后续研究；根据目的蛋白的性质差异，合适的收获时间在 2 天-5 天不等，需摸索最佳的收获时间。

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。