

EndoFectin™-Lenti 转染试剂

用于转染核酸到哺乳动物细胞，专为高效转染 HEK293T 细胞而设计。

产品编号: EF001 / EF002

包装规格: 1 mL / 3 mL

储存条件: 4°C~8°C 密闭保存，可保持稳定至少 12 个月，常温运输。

■ 产品概述

EndoFectin™-Lenti 转染试剂是一种具有专利的阳离子聚合物，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 细胞，并包装慢病毒颗粒而设计。该试剂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™-Lenti** 转染试剂具有如下优点：

- 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

■ 质量控制

每批次 **EndoFectin™-Lenti** 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™-Lenti** 转染试剂转入亚融合状态的 HEK-293 细胞，转染 16 h 后，超过 95% 的细胞表达 eGFP。

■ 注意事项

质粒质量: 请务必使用高质量转染级无内毒素质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度，260 nm / 280 nm 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：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 1 µg DNA 需用 3.0 µL 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**）。充分混匀后，室温静置 10~25 min 以形成 DNA-Endofectin™ 复合物。当溶液体积较大时，请用圆底聚丙烯

烯管，例如 Falcon® 5 mL /14 mL 管。

Culture vessel	Surface area (cm ²)	Volume of medium	Total amount of DNA per well	DNA dilution volume	Ratio of EndoFectin(μL) to DNA(μg)	EndoFectin dilution volume
6-well plate (one well)	9.3	2.0 mL	0.5 - 1.4 μg	50 - 200 μL	3 : 1	50 - 200 μL
3.5-cm dish	7.5	2.0 mL	0.4 - 1.2 μg	50 - 200 μL	3 : 1	50 - 200 μL
10-cm dish	49.0	10 mL	2.5 - 7.5 μg	0.5 - 1 mL	3 : 1	0.5 - 1 mL
15-cm dish	143.0	25 mL	7.5 - 20 μg	0.5 - 2 mL	3 : 1	0.5 - 2 mL

表 1.转染贴壁细胞的建议初始条件

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 1/2 对应孔板的无血清培养基体积，然后滴加 **DNA-EndoFectin™ 复合物**。转染 3h 后，添加 1/2 体积的包括 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℃下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。请自行确定最适合检测时间。

■ 稳定转染方法

以上步骤同样适用于稳定转染。转染 24 h 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

- 对于某些类型的细胞如 HEK-293、HEK293T、NIH/3T3 和 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，可适当降低铺板密度，以确保转染时细胞的汇合度仍为 70~80%。
- 对于接触抑制敏感的细胞，可适当降低铺板密度。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。
- 对大多数细胞来而言，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 1~4 μL 体积 EndoFectin™ 试剂进行优化。

EFL-092017

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揽月路3号F区F801
电话：020-28069288 / 020-28069233

邮编：510663
网址：www.igenebio.com