GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

EndoFectin™ Max 转染试剂

高效转染核酸到哺乳动物细胞

产品编号：	EF013 / EF014
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™ Max 转染试剂是以脂质体转染为原理的转染试剂，它能与核酸形成复合物，并使该复合物进入哺乳动物细胞。**EndoFectin™ Max** 转染试剂广泛适用于常见细胞系。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™ Max** 转染试剂具有如下优点：

- 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™ Max** 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™ Max** 转染试剂转入亚融合状态的 HEK-293T 细胞，转染 24 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 2 次。

■ 实验材料

- **EndoFectin™ Max** 转染试剂、含目的基因的 DNA 质粒
- 无蛋白细胞培养液（如 Opti-MEM I™，来自 Life Technologies. 货号：31985-088）
- 培养至 70~80%汇合度的目的细胞

■ 条件摸索

在进行正式转染前，推荐以 **EndoFectin™ Max** 转染试剂摸索目的细胞的最佳转染条件。可参考表 1 的设置，进行 4 个梯度的初步摸索。

您可在细胞培养板进行操作、或直接在 96 孔培养板中进行操作。获最佳转染条件后，可按比例放大转染试剂用量。（稀释后的 DNA 和 **EndoFectin™ Max** 转染试剂体积比为 1:1，如表 1 所示。）

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 / 0.3 / 0.4 / 0.5 µl	5 µL
24-well plate (one well)	1.9	0.5 mL	0.5 µg	25 µL	1 / 1.5 / 2 / 2.5 µl	25 µL
12-well plate (one well)	4.0	1.0 mL	1 µg	50 µL	2 / 3 / 4 / 5 µl	50 µL
6-well plate (one well)	9.3	2.0 mL	2.5 µg	125 µL	5 / 7.5 / 10 / 12.5 µl	125 µL
3.5-cm dish	7.5	2.0 mL	2.5 µg	125 µL	5 / 7.5 / 10 / 12.5 µl	125 µL
6-cm dish	21.0	5.0 mL	5 µg	250 µL	10 / 15 / 20 / 25 µl	250 µL
10-cm dish	49.0	10 mL	15 µg	750 µL	30 / 45 / 60 / 75 µl	750 µL

表 1.转染贴壁细胞的建议初始条件

■ 瞬时转染方法

1. 目的细胞铺板培养：

   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；第二天进行转染操作时，一般细胞的最佳汇合度是 70~80%。

   注意：该步骤请勿使用含抗生素的细胞培养液。

2. 制作 **DNA-EndoFectin™复合物**：

   A. 从冰箱取出 DNA 质粒、**EndoFectin™ Max** 转染试剂、无蛋白培养液（如 Opti-MEM I™）恢复至室温。

   B. 使用之前将 **EndoFectin™ Max** 转染试剂轻轻混匀。

   C. 据表 1 所示，以无蛋白培养液分别稀释 DNA 质粒、稀释 **EndoFectin™ Max** 转染试剂。稀释后，室温静置 5 分钟。（举例：使用 6 孔板转染 1 个培养孔，可取 2.5 µg DNA 质粒稀释至 125 µL，室温静置 5 分钟；取 5-12.5 µL **EndoFectin™ Max** 转染试剂稀释至 125 µL，室温静置 5 分钟。）

   D. 5 分钟后，轻柔混匀稀释的 DNA 与稀释的 **EndoFectin™ Max** 转染试剂（注意：**EndoFectin™ Max** 试剂在进行稀释后，需在 30 分钟内与 DNA 稀释液混匀）。室温静置 5~20 min，使 DNA-Endofectin™复合物充分形成。

3. 转染目的细胞：

   向培养板孔/培养皿中逐滴添加 DNA-EndoFectin™复合物，在滴加过程中轻柔晃动培养板/培养皿，使转染试剂均匀扩散。请避免将转染试剂重复滴加在同一位置（易使局部转染试剂浓度过高）。

4. 孵育细胞并检测分析：

   在 CO_2 培养箱中以 37℃孵育细胞，一段时间后即可进行分析检测。一般的基因表达在转染后孵育 24-48 小时即可进行检测；由于不同目的基因和目的细胞之间存在差异，请自行摸索并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 24 小时后，将细胞稀释至少 10 倍，进行传代；向传代细胞添加新鲜的细胞培养液，在 CO_2 培养箱中 37℃孵育过夜。第二天开始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。

注意：筛选期间需经常更换含筛选药物的细胞培养液。

■ 特别提醒

1. 对部分接触抑制敏感的细胞，在步骤 1 可适当降低铺板密度，使转染时的细胞汇合度降低。
2. 血清的存在对转染过程无负面影响，即使在细胞培养基中含有蛋白（如 10%的血清）的情况下，DNA-EndoFectin™复合物仍能顺利转染细胞。但是 **DNA-EndoFectin™复合物必须在无蛋白的条件下形成**。推荐使用无蛋白培养液 Opti-MEM I™培养基对 DNA、**EndoFectin™ Max** 试剂进行稀释，以达到最佳转染效率。如使用其它无蛋白培养基则需自行测试验证与 **EndoFectin™ Max** 的兼容性。

EF013-083120

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。

易锦生物 iGeneBio
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F区F801　　邮编：510663
客服电话：020-28069233　　E-mail：support@igenebio.com　　网址：www..igenebio.com