

磷酸钙法细胞转染试剂盒

产品简介:

外源基因导入真核细胞的方法有很多种,如磷酸钙转染法、DEAE-葡聚糖转染法、脂质体法、电穿孔法、显微注射法等。Leagene 磷酸钙法细胞转染试剂盒(Calcium Phosphate Cell Transfection Kit)是在传统的磷酸钙细胞转染方法的基础上进行了改良,提高了转染效率,并降低了毒性,可用于磷酸钙法转染细胞,不仅可以瞬时表达,也可以筛选稳定株,HEK293 是最适合磷酸钙法转染的细胞之一,优化条件后转染效率可以高达 85%以上,一般的转染效率可达 40~50%左右;其他常见细胞(例如 Hela、CHO 细胞等)也适合磷酸钙法转染,但效率比 293 细胞要略低一些。

Leagene 磷酸钙法细胞转染试剂盒主要适合于大多数贴壁细胞的转染,也可于一些悬浮细胞的转染,一般要求 DNA 浓度在 10~50 μ g 为宜, Hela、BALB 等细胞沉淀放置 16h, CHO、DUKX、BII 等细胞可以通过甘油、DMSO 进行热休克处理以提高转染效率。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	CZ0008	Storage
		200T	
试剂(A): Calcium Chloride Solution		20ml	4 $^{\circ}$ C
试剂(B): BBS Solution		20ml	-20 $^{\circ}$ C
使用说明书			1 份

自备材料:

- 1、胰蛋白酶消化液、完全培养基、PBS、无菌水

操作步骤(仅供参考):

(一)贴壁细胞转染:

- 1、在转染前 24h 用胰蛋白酶消化培养细胞,取适量对数期细胞转移至新的培养器皿中,待细胞密度达 70~80%即可进行转染。后续操作步骤均按 6 孔板计算,如果转染器皿不同,请按比例自行调节用量。
- 2、在加入 DNA 之前 2~4h,加入 2ml 不含抗生素的完全培养液,置于 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱培养。
- 3、取 2~6 μ g DNA(体积不宜超过 20 μ l)加入 100 μ l Calcium Chloride Solution,混匀,即为 DNA-CaCl₂ 溶液。

- 4、取 BBS Solution 100 μ l, 用移液器一边吹打 BBS Solution, 一边逐滴加入 DNA-CaCl₂ 溶液(操作缓慢, 一般在 1~2min)。
- 5、室温静置 20~30min, 即为 DNA-CaCl₂-BBS 溶液, 此时可能出现极其微小颗粒沉淀。
- 6、取 DNA-CaCl₂-BBS 溶液底部物质均匀加入到 6 孔板细胞中, 轻轻晃动混匀。
- 7、置于 37°C 5% CO₂ 培养箱培养 4~16h; 如果培养细胞为 CHO、DUKX 等, 可以 DMSO 或甘油进行休克处理, 转染效率会大大增加, 即培养 4~6h 后, 用 2ml 含 10%甘油或 20%DMSO 的完全培养液替换当前培养液, 室温下静置 3min, 加 5ml PBS 摇动混匀。
- 8、去除培养液, 用 PBS 清洗细胞 2 次, 加入 2ml 完全培养液继续培养, 一般 24h 后可见转染细胞的表达。

(二)悬浮细胞转染:

- 1、低速离心收集悬浮细胞, 用 PBS 洗涤 1 次。
- 2、取 2~6 μ g DNA(体积不宜超过 20 μ l)加入 100 μ l Calcium Chloride Solution, 混匀, 即为 DNA-CaCl₂ 溶液。
- 3、取 BBS solution 100 μ l, 用移液器一边吹打 BBS Solution, 一边逐滴加入 DNA-CaCl₂ 溶液(操作缓慢, 一般在 1~2min)。
- 4、室温静置 20~30min, 即为 DNA-CaCl₂-BBS 溶液, 此时可能出现极其微小颗粒沉淀。
- 5、每 10⁶ 个细胞沉淀用 100 μ l DNA-CaCl₂-BBS 溶液重新悬浮, 室温放置 20~30min。
- 6、6 孔板每孔加入 2ml 不含抗生素的完全培养基, 取 DNA-CaCl₂-BBS 溶液底部物质均匀加入到 6 孔板中, 轻轻晃动混匀。
- 7、置于 37°C 5% CO₂ 培养箱培养 4~16h, 去除培养液, 用 PBS 清洗细胞 2 次, 加入 2ml 完全培养液继续培养, 一般 24h 后可见转染细胞的表达。

注意事项:

- 1、注意无菌操作, 尽量避免污染, 同时 DNA 不应含有蛋白和酚。
- 2、休克处理某些细胞系会使转染效率大大提高, 但应注意甘油暴露过久易导致细胞死亡。
- 3、转染 12~24h 后, 可以加入终浓度为 10mmol/L 的丁酸钠溶液, 可以提高病毒滴度。
- 4、BBS Solution 的 pH 值直接关系到转染效率, 尽量避免长时间暴露在空气中, 以免被空气中的二氧化碳酸化。
- 5、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 12 个月有效。低温运输, 按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DC0032	Masson 三色染色液
DG0005	糖原 PAS 染色液
DM0002	姬姆萨染色液(1:9)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
TE0002	碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(PNP 微板法)