

磷酸钙法细胞转染试剂盒

产品介绍

本试剂盒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。用磷酸钙法转染细胞,不仅可以瞬时表达,也可以筛选稳定株。

HEK293 或 HEK293T 细胞,即通常所谓的 293 细胞,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 90%以上;通常很容易达到 40-50%左右的转染效率。大多数常见的细胞例如 Hela 细胞、CHO 细胞等也都适合磷酸钙法转染,但效率比 293 细胞要略低一些。

本试剂盒不仅适合于大多数贴壁细胞的转染,也适用于一些悬浮细胞的转染。

本试剂盒提供的试剂都经无菌处理,可以直接使用。

包装清单

序号	产品名称	包装
1	BBS 溶液	20 mL
2	氯化钙溶液	20 mL
3	说明书	1 份

保存条件:

-20°C保存,一年有效。

注意事项:

转染时,把 DNA-氯化钙溶液加入到 BBS 溶液中,不要把 BBS 溶液加入到 DNA-氯化钙溶液中。

高纯度的质粒是获得高转染效率的必要条件,要确保 A260/A280 大于 1.8,并且电泳检测抽提到的质粒 90%以上都是超螺旋。

在用磷酸钙法转染细胞时应使用浓度不高于 5%的二氧化碳,二氧化碳的最佳浓度为 3%左右。BBS 溶液的 pH 值直接关系到转染效率,尽量避免把 BBS 溶液长时间暴露在空气中,以免被空气中的二氧化碳酸化。

转染时由于质粒不同、细胞不同,最佳的质粒用量需自行摸索。

本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 对于贴壁细胞:

a) 将细胞培养于培养皿或培养板内,通常在铺板后 1-2 天内长到 70-80%满为宜。后续说明都按 6 孔板内一个孔进行说明,如果有更多个孔或大小不相同的培养器皿,请自行换算。

b) 在转染前 30-60 分钟,吸去细胞培养液,加入新鲜的不含抗生素的完全培养液 2 毫升。

注意:转染时最好使用新鲜配制且 pH 值经过精心调校的培养液;转染用的培养液可以在配制后分装冻存,使用时再解冻。

c) 取 2-6 微克待转染的质粒 DNA (质粒总体积不宜超过 20 微升),加入到 100 微升氯化钙溶液中,混匀。

d) 把 DNA-氯化钙溶液逐滴加入到 100 微升 BBS 溶液中,混匀,整个过程需缓慢进行,至少需持续 1~2min。室温孵育 10-20 分钟。此时不会产生可见的沉淀。

e) 把 DNA-氯化钙-BBS 混合物均匀滴加到整个 6 孔板内。在含 5%二氧化碳的 37°C 细胞培养箱内培养。

f) 根据实验要求和磷酸钙对于不同细胞的毒性不同, 在 4-16 小时后轻轻晃动培养板数次以充分悬浮一些磷酸钙沉淀, 吸去含磷酸钙沉淀的培养液, 加入 2 毫升新鲜的完全培养液, 继续培养。

g) 通常在转染约 24 小时后就可以检测到转染基因的表达。

2. 对于悬浮细胞 :

a) 离心收集悬浮细胞, 用 PBS 洗涤一次。

b) 按照上面的步骤 c) 和 d) 制备 DNA-氯化钙-BBS 混合物。

c) 每 10⁶ 个细胞的沉淀, 用 100 微升 DNA-氯化钙-BBS 混合物重新悬浮, 室温放置 20 分钟。

d) 在一个 6 孔板孔内加入 2 毫升完全培养液, 然后加入来自上一步的细胞-DNA-氯化钙-BBS 混合物, 混匀。

e) 在含 5% 二氧化碳的 37°C 细胞培养箱内培养。

f) 根据实验要求和磷酸钙对于不同细胞的毒性不同, 在 4-16 小时后离心收集细胞, 用 PBS 洗一次, 然后用 2 毫升完全培养液重新悬浮细胞, 继续培养。

g) 通常在转染约 24 小时后就可以检测到转染基因的表达。

注意事项

1. 在整个转染过程中都应无菌操作。
2. 为获得最佳实验结果, DNA 应不含蛋白质和酚。乙醇沉淀后的 DNA 应保持无菌, 并在无菌水或 Tris EDTA 中溶解。
3. 在实验中使用的每种试剂都必须小心校准, 保证质量, 因为甚至偏离最优条件十分之一 pH 都可能导致磷酸钙转染的失败。

北京诺梵生物科技有限公司

主页 : <http://www.novinbio.com/>

电话 : 400-832-8698