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。

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 10～50μg 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:

编号 / 名称	GCCZ0008 200T	Storage
试剂(A): Calcium Chloride Solution	20ml	4℃
试剂(B): BBS Solution	20ml	-20℃
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℃ 5% CO_2 培养箱培养。

3、取 2～6μg DNA(体积不宜超过 20μl)加入 100μl Calcium Chloride Solution，混匀，即为 DNA-$CaCl_2$ 溶液。

4、取 BBS Solution 100μl，用移液器一边吹打 BBS Solution，一边逐滴加入 DNA-$CaCl_2$ 溶液(操作缓慢，一般在 1～2min)。

5、室温静置 20～30min，即为 DNA-$CaCl_2$-BBS 溶液，此时可能出现极其微小颗粒沉淀。

6、取 DNA-$CaCl_2$-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℃ 5% CO_2 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 2～6μg DNA(体积不宜超过 20μl)加入 100μl Calcium Chloride Solution，混匀，即为 DNA-$CaCl_2$ 溶液。

3、取 BBS solution 100μl，用移液器一边吹打 BBS Solution，一边逐滴加入 DNA-$CaCl_2$ 溶液(操作缓慢，一般在 1～2min)。

4、室温静置 20～30min，即为 DNA-$CaCl_2$-BBS 溶液，此时可能出现极其微小颗粒沉淀。

5、每 10^6 个细胞沉淀用 100μl DNA-$CaCl_2$-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-$CaCl_2$-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℃ 5% CO_2 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
GCCS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDG0005	糖原 PAS 染色液
GCDM0002	姬姆萨染色液(1:9)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCTE0002	碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(PNP 微板法)