

Calcium Phosphate Cell Transfection Kit

磷酸钙法细胞转染试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL159A	磷酸钙法细胞转染试剂盒	200T

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。本产品是在传统磷酸钙细胞转染法的基础上进行了改良，提高了转染效率，并降低了毒性。用改良后的磷酸钙法细胞转染试剂，不仅适用细胞的瞬时转染，也可以筛选稳定株。HEK293 细胞是最适合磷酸钙法转染的细胞之一，一般的转染效率在 40~50%左右，经优化条件后，本产品的转染效率可以高达 85%以上；其他常见细胞(例如 Hela、CHO 细胞等)也适合磷酸钙法转染，但转染效率比 HEK293 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 10~50 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。

产品组成:

组分	名称	规格	保存
BL159A-1	CaCl ₂ 溶液	20ml	4°C
BL159A-2	BBS 溶液	20ml	-20°C

使用方法 (仅供参考):

1. 贴壁细胞转染:

- 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。
- 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°C 5% CO₂ 培养箱培养。
- 取 2~6 μ g DNA(体积不宜超过 20 μ l)加入 100 μ l CaCl₂ 溶液，混匀，即为 DNA-CaCl₂ 溶液。
- 取 BBS 溶液 100 μ l，用移液器一边吹打 BBS 溶液，一边逐滴加入 DNA-CaCl₂ 溶液(操作缓慢，一般在 1~2min)。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



转染细胞的表达。

2. 悬浮细胞转染:

- (a) 低速离心收集悬浮细胞, 用 PBS 洗涤 1 次。
- (b) 取 2~6 μ g DNA(体积不宜超过 20 μ l)加入 100 μ l CaCl₂ 溶液, 混匀, 即为 DNA-CaCl₂ 溶液。
- (c) 取 BBS 溶液 100 μ l, 用移液器一边吹打 BBS 溶液, 一边逐滴加入 DNA-CaCl₂ 溶液(操作缓慢, 一般在 1~2min)。
- (d) 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。
- (e) 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。
- (f) 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。
- (g) 置于 37 $^{\circ}$ 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 溶液的 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。

有效期:

-20 $^{\circ}$ C 保存半年。

