

烯管，例如 Falcon® 5 mL /14 mL 管。

| Culture vessel | Surface area (cm ²) | Volume of medium | Total amount of DNA per well | DNA dilution volume | Ratio of EndoFectin(μL) to DNA(μg) | EndoFectin dilution volume |
|-------------------------|---------------------------------|------------------|------------------------------|---------------------|------------------------------------|----------------------------|
| 6-well plate (one well) | 9.3 | 2.0 mL | 0.5 - 1.4 μg | 50 - 200 μL | 3 : 1 | 50 - 200 μL |
| 3.5-cm dish | 7.5 | 2.0 mL | 0.4 - 1.2 μg | 50 - 200 μL | 3 : 1 | 50 - 200 μL |
| 10-cm dish | 49.0 | 10 mL | 2.5 - 7.5 μg | 0.5 - 1 mL | 3 : 1 | 0.5 - 1 mL |
| 15-cm dish | 143.0 | 25 mL | 7.5 - 20 μg | 0.5 - 2 mL | 3 : 1 | 0.5 - 2 mL |

表 1.转染贴壁细胞的建议初始条件

3. 转染细胞:

直接向每个孔中加入 **DNA-EndoFectin™ 复合物** 并轻轻涡旋培养板/培养皿。在无血清条件下转染时，去除生长培养基，替换成无血清培养基，然后滴加 **DNA-EndoFectin™ 复合物**。转染 3 h 后，添加 ½ 体积的包含 30% 血清的生长培养基。

4. 孵育细胞和分析结果:

在 CO₂ 培养箱中 37°C 下孵育细胞至可以分析检测。转染后最快 7 h 即可检测到转入基因的表达。请自行确定最适合检测时间。

■ 稳定转染方法

以上步骤同样适用于稳定转染。转染 24 h 后，将细胞传代至新鲜的生长培养基中（将细胞稀释 10 倍以上），在 CO₂ 培养箱中 37°C 孵育过夜。第二天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，在这期间需经常更换含筛选药物的生长培养基。

■ 特别提醒

- 对于某些类型的细胞如 HEK-293、HEK293T、NIH/3T3 和 COS 细胞，在转染前两天铺板可显著提高转入基因的表达水平。如果选择转染前两天铺板，可适当降低铺板密度，以确保转染时细胞的汇合度仍为 70~80%。
 - 对于接触抑制敏感的细胞，可适当降低铺板密度。
- 即使在有蛋白（如 10% 的血清）存在的情况下，**DNA-EndoFectin™ 复合物** 仍能转染细胞，但是 **DNA-EndoFectin™ 复合物** 必须在无蛋白存在的条件下形成。我们推荐使用 Opti-MEM I™ 培养基以达到最佳转染效率。其他的无蛋白培养基则需测试与 EndoFectin™ 试剂的兼容性。
- 对大多数细胞来而言，每 1 μg DNA 使用 3.0 μL EndoFectin™ 试剂都能获得较高转染效率。使用者也可尝试每 1 μg DNA 使用 1~4 μL 体积 EndoFectin™ 试剂进行优化。

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。