

## EndoFectin™-Lenti 转染试剂

用于转染核酸到哺乳动物细胞

产品编号: Z01020A / Z01020B / Z01020C(A×5)

包装规格: 1 mL / 0.5 mL / 5 mL

储存条件: 4°C~8°C 密闭保存, 可保持稳定至少 12 个月, 常温运输。

### ■ 产品概述

**EndoFectin™-Lenti** 转染试剂是一种具有专利的阳离子聚合物, 它能与核酸形成复合物, 并使该复合物进入哺乳动物细胞。**EndoFectin™-Lenti** 转染试剂专为转染 HEK293T 细胞, 并包装慢病毒颗粒而设计。该试剂即使在有血清存在的情况下, 它仍然能高效的将核酸导入细胞。

**GeneCopoeia** 公司提供的 **EndoFectin™-Lenti** 转染试剂具有如下优点:

- 优越的转染效率
- 重组蛋白的高表达水平
- 与含血清的培养基相兼容
- 低细胞毒性
- 易于操作

### ■ 质量控制

每批次 **EndoFectin™-Lenti** 转染试剂均经过转染测试。将 eGFP 表达质粒 (GeneCopoeia Cat.No. EX-EGFP-Lv01) 用 **EndoFectin™-Lenti** 转染试剂转入亚融合状态的 HEK-293 细胞, 转染 16 h 后, 超过 95% 的细胞表达 eGFP。

### ■ 注意事项

**质粒质量:** 请务必使用高质量转染级无内毒素质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度, 260 nm / 280 nm 比值确定 DNA 纯度 (比值应该在 1.8~2.0 的范围之内)。如有可能, 请通过琼脂糖凝胶电泳检测质粒的完整性。

**细胞条件:** 使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保培养基没有被细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞, 请在转染前至少传代两次。

### ■ 瞬时转染方法

1. 接种细胞:  
转染前一天, 用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度, 将细胞铺入细胞培养的器皿, 总体积如表 1 所示, 每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到 70~80%。
2. 准备 DNA-EndoFectin™ 复合物:  
DNA、EndoFectin™ 试剂和稀释剂在进行以下步骤前需先使其升至室温。依据表 1 所示, 用 Opti-MEM I™ (Invitrogen) 或其他适合的无蛋白培养基稀释适量 DNA。用同样的培养基稀释 EndoFectin™ 试剂。每 1 µg DNA 需用 3.0 µL EndoFectin™ 试剂。一边轻轻涡旋装有 DNA 溶液的试管, 一边将稀释的 EndoFectin™ 试剂滴加至试管中 (注意: 请勿颠倒添加顺序)。充分混匀后, 室温静置 10~25 min 以形成 DNA-Endofectin™ 复合物。当溶液体积较大时, 请用圆底聚丙

烯管，例如 Falcon® 5 mL /14 mL 管。

Culture vessel	Surface area (cm <sup>2</sup> )	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
35-mm dish	7.5	2.0 mL	0.4 - 1.2 μg	50 - 200 μL	3 : 1	50 - 200 μL
10-mm dish	49.0	10 mL	2.5 - 7.5 μg	0.5 - 1 mL	3 : 1	0.5 - 1 mL
15-mm 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 CO<sub>2</sub> 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 CO<sub>2</sub> 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。