

HiTrans 磷酸钙转染试剂盒使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5110	HiTrans Calcium Phosphate Transfection Kit	200 次/500 次
EK-5110-A	氯化钙溶液	20ml/50ml
EK-5110-B	磷酸钙转染缓冲液	20ml/50ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

-20℃ 保存，一年有效

【概述】

HiTrans 磷酸钙法细胞转染试剂盒(HiTrans Calcium Phosphate Cell Transfection Kit)，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。本试剂盒内提供的试剂都经无菌处理，可以直接使用。

已验证可使用的细胞系包括：HEK293T、Hela、CHO K1、BAEC、肠黑素瘤细胞、COS-7、成纤维细胞（人胚胎、新皮肤）、HEK293、Huh7、IMR-90、LLC（Lewis 肺癌）、NIH3T3、PC-12、PCI-13、SH-SY5Y、SK-HEP-1、T47D 等。

【操作方法】

A. 对于贴壁细胞（以 6 孔板为例）：

1. 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。
2. 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。
3. 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。

4. 把 DNA-氯化钙溶液加入到 100 微升磷酸钙转染缓冲液中，混匀，室温孵育 10-20 分钟。此时不会产生可见的沉淀。
5. 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。
6. 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。
7. 通常在转染约 24 小时后就可以检测到转染基因的表达。

B. 对于悬浮细胞：

1. 离心收集悬浮细胞，用 PBS 洗涤一次。
2. 按照上面的步骤 3)和 4)制备 DNA-氯化钙-磷酸钙转染缓冲液混合物。
3. 每 10^6 个细胞的沉淀，用 100 微升 DNA-氯化钙-磷酸钙转染缓冲液混合物重新悬浮，室温放置 20 分钟。
4. 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。
5. 在含 5%二氧化碳的 37°C 细胞培养箱内培养。
6. 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。
7. 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. 转染时，把 DNA-氯化钙溶液加入到磷酸钙转染缓冲液中，不要把磷酸钙转染缓冲液加入到 DNA-氯化钙溶液中。
2. 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。
3. 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。
4. 仅用于实验室，不适合农业/家庭/临床用途使用。
5. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。