

HEPES 缓冲盐溶液(2×HeBS,pH6.7)

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，2×HEPES 缓冲盐溶液主要用于磷酸钙转染，其主要成分为 HEPES，HEPES 是一种非离子两性缓冲剂，能有效控制 pH 在 6.8~8.2 范围，尤其在 pH7.2~7.4 具有较好的缓冲能力，终浓度一般为 10~50mmol/L，培养液内含 20mmol/L HEPES 即可达到较好的缓冲能力。

HEPES 缓冲盐溶液(2×HeBS)是一种常用的细胞转染溶液，主要由 HEPES、氯化钠、磷酸盐等组成，其最适 pH 值约为 6.7，经过滤除菌处理；影响磷酸钙转染效率的因素主要有沉淀中 DNA 含量、DNA 在细胞上停留的时间、休克时间，2×HeBS 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。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号	ADS044CC0	Storage
	HEPES 缓冲盐溶液(2×HeBS,pH6.7)		100ml
使用说明书		1 份	

自备材料:

1、胰蛋白酶消化液、PBS、无菌水、CaCl₂ 溶液、甘油或 DMSO、筛选药物

操作步骤(仅供参考)

- 1、在转染前 24h 用蛋白酶消化培养细胞，取适量数期细胞转移至新的培养器皿中，使细胞在转染时生长状态良好。
- 2、在加入 DNA 之前 2~4h，按 9ml/10cm 培养皿的比例加入完全培养液，置于 37°C 5% CO₂ 培养箱培养。
- 3、取适量乙醇沉淀的 DNA 溶解于 450μl 无菌水中，加入 50μl 2.5M CaCl₂，并充分混匀，使 Ca²⁺终浓度达到 0.25M。
- 4、用移液器一边吹打 2×HeBS，一边逐滴加入配制好的 DNA/CaCl₂ 溶液(操作应迅速，一般在 30~60s)，并剧烈振荡 5s，室温下静置 20~30min 以形成沉淀。
- 5、取沉淀均匀加入到培养皿细胞中，轻轻晃动使沉淀于培养液充分混匀，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。

- 6、去除培养液, 用 PBS 清洗细胞 2 次, 加入 5~10ml 完全培养液继续培养。
- 7、对于瞬时转染, 在转染的不同时间点内收集细胞并检测, 一般时间多控制在 12~60h 以内。
- 8、对于稳定转染, 转染后在非选择性培养液培养 18~48h, 一般时间多控制在 24~36h, 以便外源基因表达。
- 9、用胰蛋白酶消化细胞并传代, 更换适当的选择培养液继续培养, 没 2~4d 更换一次选择培养液, 一般 10~14d 会出现目的细胞克隆。

注意事项

- 1、注意无菌操作, 尽量避免污染。
- 2、对于瞬时转染, 可以不用乙醇沉淀的 DNA。
- 3、本品易被细菌污染, 可分装后-20℃保存, 可延长保质期。
- 4、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 5、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。
- 6、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。
- 7、该试剂用于转染时应检测其转染效率, 好的转染效率应介于 30~60%之间。
- 8、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; 低温运输, -20℃保存。。