

HEPES 缓冲盐溶液(2×HeBS,pH7.05)

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 值在 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/LHEPES 即可达到较好的缓冲能力。

Leagene 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 值为 7.05~7.12,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 10~50 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。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	CC0069	Storage
	HEPES 缓冲盐溶液(2×HeBS,pH7.05)		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 450 μ l 无菌水中,加入 50 μ l 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 个月有效; 低温运输, -20℃保存。。

相关产品:

产品编号	产品名称
CA0002	G418 溶液(geneticin,20mg/ml)
CA0075	青霉素-链霉素混合溶液(100×双抗)
DA0020	Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒
DC0032	Masson 三色染色液
NH0043	SSC 缓冲液(20×,pH7.0)
PW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
TC0099	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)