

HEPES缓冲盐溶液 (2×HeBS, pH=7.05)

产品货号: T10144

产品规格: 100ml/500ml

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 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。

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 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:

产品名称	规格	保存条件
HEPES 缓冲盐溶液 (2×HeBS, pH=7.05)	100ml/500ml	-20 $^{\circ}$ C

自备材料:

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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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,每 2~4d 更换一次选择培养液,一般 10~14d 会出现目的细胞克隆。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>