

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。

乐业生物 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。乐业生物2×HeBS要求DNA浓度在10~50μg为宜,Hela、BALB等细胞沉淀放置16h,CHO、DUKX、B II等细胞可以通过甘油、DMSO进行热休克处理以提高转染效率。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
HEPES缓冲盐溶液 (2×HeBS, pH=7.05)	100ml/500ml	-20℃

自备材料:

1. 胰蛋白酶消化液
2. PBS
3. 无菌水
4. CaCl₂溶液
5. 甘油或DMSO
6. 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℃ 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Ca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℃ 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



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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. 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。
4. 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。
5. 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。
6. 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: 6 个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com