



EnoGeneFec™ 2200 Transfection Reagent

and stability EnoGeneFec™ 2200 Transfection Reagent is provided in 1µg/µL concentration. It is shipped at room temperature and is stabilized for extended storage at +4°C for one year when very tightly closed.

产品介绍

EnoGene新推出的EnoGeneFec™ 转染试剂以最高的转染效率、使用方便、细胞毒性小、生物可降解为设计宗旨，EnoGene的新型配方克服了常见的阳离子或脂质体转染试剂带来的细胞毒性作用，更适合做长效和瞬时转染。使用这种新的转染试剂操作方便，可用于转染质粒、线性双链DNA、反义寡核苷酸及RNAi等，在实际使用中获得了非常理想的效果。

EnoGeneFec™ 2200是针对原代细胞设计的转染试剂，可用于体外转染质粒、线性双链DNA、反义寡核苷酸及RNAi等。对常用的原代细胞转染效率可达60%以上。

EnoGeneFec™ 2200可以形成微小的（平均大小约100-400nm）单层脂质体，靠静电作用结合到DNA的磷酸骨架上以及带负电的细胞膜表面，并与寡核苷酸等能形成稳定的较小的纳米胶体颗粒，通过细胞"内吞作用"进入细胞，能吸收溶酶体的H⁺，在复合体中形成酸性环境使核酸酶失活，保护DNA免受核酸酶的降解。进入细胞后，复合体囊泡肿胀破裂，将DNA释放到细胞质中，实现基因转染。。

EnoGeneFec™ 2200与其他转染试剂相比无论在转染效果和实验操作上都有明显的优势，主要表现为：

- 转染效率很高，对大多数原代贴壁或原代悬浮细胞使用效果综合评价明显高于其它常用转染试剂
- 细胞毒性低，需要转染较大剂量的DNA时，毒性明显低于其它常用转染试剂

For Research Use Only

●操作简单，以最短的时间完成转染，转染试剂-DNA复合物的形成时间只需20min

试剂盒组分

组分

EnoGeneFec™ 2200 Transfection Reagent

EGF2200-500

0.5ml

EGF2200-1000

1ml

EGF2200-1500

1.5ml

操作步骤（以6孔板为例）

对于原代贴壁细胞：

转染前18-24小时使用完全培养基在6孔细胞培养板，每孔接种2ml 细胞培养液（根据细胞培养条件，可含血清及抗生素），约为 $1-3 \times 10^5$ 个细胞，转染前细胞密度应达到70—90%。若使用其他的培养板或培养皿，可以参照表1中提供的孔（或皿）表面积和体积相应的调整细胞接种数、EnoGeneFec™ 2200加量。

表1：细胞培养孔（或皿）表面积和体积相应的调整细胞接种数、EnoGeneFec™ 2200加量

培养板

表面积

(cm²/孔or皿)

可容纳培养基体积

(ml/孔or皿)

DNA（或其他核苷酸类成分）用量（μg）

EnoGeneFec™ 2200

用量

待加的无血清、无抗生素的培养基体积

96孔

0.3

0.1-0.2

0.2μg溶于 20 μl 培养基

0.4μl 溶于 20 μl培养基

Storage/Stability:

50 μ l
24孔
2
0.5
0.2-1 μ g溶于 25 μ l 培养基
2-4 μ l 溶于 25 μ l培养基
0.4ml
12孔
4
1.0
0.5-2.0 μ g溶于 100 μ l培养基
4-8 μ l 溶于 100 μ l培养基
0.6ml
6孔
10
2.0
1.0-5.0 μ g溶于 100 μ l培养基
10-20 μ l 溶于 100 μ l培养基
0.8ml
35 mm
10
2.0
1.0-5.0 μ g溶于 100 μ l培养基
10-20 μ l 溶于 100培养基
0.8ml
60mm
20
5ml
3.0-10.0 μ g 溶于 500 μ l培养基
10-20 μ l 溶于 500培养基
2.4ml
10-cm
60
10ml

8.0-20.0 µg 溶于 1.5ml培养基

90-200µl 溶于 800µl培养基

6.4ml

2. 转染复合物的制备:

溶液A: 将5µg 质粒DNA (或其他核苷酸类成分) 加入到100µl无血清、无抗生素的培养基, 在1.5ml无菌EP管中混匀后, 室温放置5分钟。

溶液B: EnoGeneFec™ 2200在使用前请震荡混匀。将10-20µl EnoGeneFec™ 2200加入到100µl 无血清、无抗生素的培养基中, 在1.5ml无菌EP管中混匀, 室温放置5分钟。

将溶液A加入到溶液B中, 轻轻混匀, 室温放置20分钟, 获得约200µl转染复合物 (注: 该转染复合物在室温下5小时内是稳定的)。

3.将800µl 无血清、无抗生素的培养基加入到上述的200µl转染复合物中, 轻轻混匀, 获得约1.0ml转染复合物溶液。将培养板中的培养基弃去, 将获得的1.0ml转染复合物溶液加入到培养孔中覆盖细胞。

4. 于5-8小时后, 弃去每孔中的转染复合物溶液, 加入2.0ml完全培养基 (根据细胞培养条件, 可含血清及抗生素), 37°C孵育转染细胞18-24小时。

6. 收集细胞用于分析。如要建立稳定转染, 于转染24小时后将细胞按1:10传代至新鲜培养基中 (根据细胞培养条件, 可含血清及抗生素), 传代次日可以换用选择培养基。

对于原代悬浮细胞:

1. 在制备转染复合物之前1小时, 接种0.8ml 无血清、无抗生素的培养基细胞悬液 (含3-5×10⁵个细胞) 至6孔细胞培养板中。若使用其他的培养板或培养皿, 可以参照表1中提供的孔 (或皿) 表面积和体积相应的调整细胞接种数、EnoGeneFec™ 2200加量。

2. 转染复合物的制备:

溶液A: 将5µg 质粒DNA (或其他核苷酸类成分) 加入到100µl无血清、无抗生素的培养基, 在1.5ml无菌EP管中混匀后, 室温放置5分钟。

溶液B: EnoGeneFec™ 2200在使用前请震荡混匀。将10-20µl EnoGeneFec™ 2200加入到100µl 无血清、无抗生素的培养基

中，在1.5ml无菌EP管中混匀，室温放置5分钟。

将溶液A加入到溶液B中，轻轻混匀，室温放置20分钟，获得约200 μ l转染复合物（注：该转染复合物在室温下5小时内是稳定的）。

3. 将上述的200 μ l转染复合物滴加到第一步接种了0.8ml 无血清、无抗生素的培养基细胞悬液（含3-5 \times 10⁵个细胞）的培养孔中，轻轻混匀。

4. 于5-8小时后，培养孔中加入0.1ml血清（可含抗生素），37 $^{\circ}$ C 孵育转染细胞18-24小时。

5. 收集细胞用于分析。如要建立稳定转染，于转染24小时后将细胞按1:10传代至新鲜培养基中（根据细胞培养条件，可含血清及抗生素），传代次日可以换用选择培养基。

注意事项

1. 质粒DNA的质量

使用高纯度的质粒DNA也是转染试验中的关键因素。为了保证试验的结果，建议对提取的质粒DNA的量和纯度进行检测。DNA含量(μ g/mL)=50 \times (260 nm的读数) \times 稀释倍数，另外通过检测质粒DNA在260nm和280nm的OD值的比值（OD₂₆₀/OD₂₈₀）估计核酸的纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀=1.8说明DNA样本纯度较高。

转染细胞的要求

细胞的传代次数是影响转染效果的重要因素，推荐使用在5代以内的原代细胞进行转染试验。

3. 血清的影响

在EnoGeneFec™ 2200和DNA形成转染复合物的过程中不能添加血清。

4. EnoGeneFec™ 2200的用量

为了达到更高的转染效率，对于接种细胞密度在70%-90%之间的样本，可通过预试验在EnoGeneFec™

2200 (μ l) :DNA (μ g) =1:1 - 5:1之间选择最佳的比例。

EnoGeneFec™ 2200 (μ l) :DNA (μ g) 的推荐比例为2:1或5:

1。对于一般细胞，2: 1即可获得理想转染效果；对于较难转染的细胞，建议使用5: 1。

五、储存

EnoGeneFec™ 2200以1 μ g/ μ l浓度液体形式提供，保存在4 $^{\circ}$ C。

	常温运输。 保存期：一年
Research Area:	Stem Cells Cancer Cardiovascular Cell Biology Epigenetics & Nuclear Signaling Developmental Biologys Immunology Drug Discovery Products Metabolism Neuroscience Signal Transduction