

E-poly™ 转染试剂 DNA 转染实例

——HepG2 细胞转染方案

1. 实验名称

E-Poly™转染试剂转染 HepG2 细胞

2. 实验仪器及试剂

细胞培养箱、倒置荧光显微镜、超净工作台、离心机、移液器

完全培养液：含 10% FBS、1%双抗的 MEM 培养液

胰酶、PBS、GFP 质粒、E-Poly™转染试剂

3. 实验过程

Day1.

3.1. 细胞消化

采用完全培养液培养 HepG2 细胞，5% CO₂、37 °C恒温培养箱中培养。

以 T25 瓶为例，细胞长到约 90%，弃去培养液，加入 PBS 洗涤后弃去，加入胰酶 1 mL，消化约 2~3min，加完全培养液 1 mL，将细胞吹打下来转移至无菌离心管中，1000 rpm，离心 5 min，弃掉上清，加入 1 mL 完全培养液，吹打混合均匀，计数，用完全培养液稀释为 **10 万/mL 的细胞悬液**。

注 1.: 尽量选择细胞状态较好的细胞代次；

3.2. 种板

上述含完全培养液的细胞悬液，按照以下体积种板。37 °C条件下，培养 24 h 后，细胞达到约 80%满。

孔板类型	培养基体积	孔板类型	培养基体积	孔板类型	培养基体积
6 孔板	2 mL	12 孔板	1 mL	24 孔板	0.5 mL
48 孔板	0.25 mL	96 孔板	0.1 mL		

Day2.

3.3. DNA-转染复合液配制

DNA 溶液配制：DNA 以无菌无酶水稀释至 1 mg/mL

20 µg/mL DNA 转染复合液配制：取无菌离心管，加入 **1 µL DNA 溶液**，加入 E-Poly™转染试剂 **A 液 50 µL**，吹打混匀，加入 E-Poly™转染试剂 **B 液 3 µL**，吹打均匀，室温孵育 **10~20 min**。

注：对于 12 孔板或 6 孔板，上述复合液配制时，DNA 溶液、A 液和 B 液等比例加倍即可。

3.4. 加药及换液

铺板 24 h 后，按种板**细胞悬液体积的 1/20 和 1/40**，加入上述配制好的 20 µg/mL DNA 转染复合液，即为 1 µg/mL 和 0.5 µg/mL 转染浓度。十字摇动培养板，轻轻混匀。

培养板放入 5% CO₂、37 °C恒温培养箱中培养，**24h 后更换为新鲜的完全培养液**，继续培养于 5% CO₂、37 °C恒温培养箱中。

Day3-Day4.

3.5. 观察结果

转染换液后，继续培养 24 h，荧光显微镜观察 GFP 表达。