

## LTXFECT 原代 Huvec 质粒 DNA 转染试剂盒

货号: CSP160-0.5/CSP160-1.0/CSP160-1.5

储存条件: 转染试剂 -20°C 避光保存, Trans Enhancer 2-8°C 存放

### 产品简介:

内皮细胞, 包括人脐静脉内皮细胞、人肺动脉内皮细胞、大鼠肺动脉内皮细胞等, 是较难转染的一类细胞。内皮细胞不仅对转染试剂的毒性较为敏感, 细胞膜的通透性也不高。普通转染试剂不仅难以将 DNA、siRNA 和 mRNA 等外源核酸片段转入内皮细胞, 还会导致培养内皮细胞的大量死亡。中乔新舟团队采用可降解生物材料转染技术, 成功研发出内皮细胞专用的质粒 DNA 转染试剂。LTXFECT 原代 Huvec 具有非常优异的质粒 DNA 转染性能, 可高效转染人脐静脉内皮细胞、肺动脉内皮细胞等, 在 Huvec 中的转染阳性率可高达 60% 左右。特别是 LTXFECT 原代 Huvec 采用可降解生物材料, 完全克服了普通转染试剂高细胞毒性的缺点, 细胞毒性极低, 转染后内皮细胞死亡率只有 10% 左右。本试剂只进行质粒 DNA 转染, 如进行 siRNA/miRNA 转染, 请选用 LTXFECT Huvec siRNA miRNA 转染试剂。

### 试剂盒包装

| 货号         | LTXFECT 原代 Huvec | Trans buffer | Endomax |
|------------|------------------|--------------|---------|
| CSP160-0.5 | 0.5ml            | 25ml         | 250ml   |
| CSP160-1.0 | 1.0ml            | 50ml         | 500ml   |
| CSP160-1.5 | 1.5ml            | 75ml         | 750ml   |

### 细胞转染方法步骤 (以 24 孔板转染为例):

#### A. 细胞接种:

1. 转染前一天将细胞铺板, 使用内皮细胞专用培养基, 每孔  $1.0-1.5 \times 10^5$  个细胞左右, 使转染时细胞密度为 80% 左右。

#### B. 转染复合物包装 (该步完成后应立即进行转染):

1. 在 1.5 ml 无菌离心管中加入 40  $\mu$ l Trans buffer, 并添加适量的 DNA (参见附表), 用移液器轻轻混匀成 DNA 稀释液。
2. 轻轻混匀并吸取适量转染试剂, 立即添加到 DNA 稀释液中, 再用移液器轻轻混匀。
3. 将转染复合物室温静置 15 分钟后, 立即转染。

注意: 离心管最好使用聚丙烯离心管。

#### C. 换液:

在 B2 步操作完毕、复合物静置期间, 用移液器小心吸弃各培养孔中的培养液, 再分别加入 0.5 mL 转染培养基。

(在无菌细胞培养管中加入适量 Endomax, 再加入 10% FBS, 轻轻混匀即为转染培养基, 此液建议先行配制, Endomax 的量根据转染孔数而定, 如 24 孔板, 10 个转染孔, Endomax 的量为 0.5 mL  $\times$  10, FBS 的量为 0.5 mL。)

#### D. 转染:

1. 将步骤 B 制备的转染复合物滴加至细胞培养孔中, 边加边轻轻晃动培养板以使复合物均匀分布。
2. 放于培养箱培养 5 小时, 取出培养板, 用移液器小心吸弃各培养孔中的转染培养基, 再分别加入 0.5 mL 内皮细胞专用培养基。培养 24 小时后进行观察, 也可在 36 小时进行观察。

#### 运输与储存:

冰袋运输, 2-8°C 保存, 有效期一年。每次使用前请先将 LTXFECT 原代 Huvec、Endomax 轻轻混匀。

自备试剂: 内皮细胞专用培养基、内皮细胞生长因子、胎牛血清等。

### 产品特点:

- 可高效转染人脐静脉内皮细胞、肺动脉内皮细胞等, 在 Huvec 中的转染阳性率可高达 60%;
- 细胞毒性极低, 可降解生物材料, 转染后细胞死亡率只有 10% 左右。

### 适用细胞系:

人脐静脉内皮细胞、人肺动脉内皮细胞、大鼠肺动脉内皮细胞、兔肺动脉内皮细胞、肾动脉内皮细胞等。

### 转染注意事项:

1. 首次使用，建议进行细胞密度优化实验，如可在24孔培养板中分别接种 $1.0 \times 10^5$ 、 $1.5 \times 10^5$ 个细胞，分别进行DNA转染，以选择出转染效果较好的细胞接种密度；
2. 应在内皮细胞生长状态良好时转染，使用彻底去除内毒素的高浓度质粒DNA溶液，DNA浓度应 $\geq 0.5 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ，建议使用专业的去内毒素中大量质粒提取试剂进行质粒提取；
3. 必要时可对转染试剂的用量进行优化，如24孔培养板，可选择三孔进行优化，每孔转染试剂的用量分别为0.8 $\mu\text{L}$ 、1.0 $\mu\text{L}$ 、1.2 $\mu\text{L}$ ，选择转染效果最优的转染试剂用量；
4. 内皮细胞专用培养基最好使用研究者实验室使用过的、效果良好的内皮细胞培养基，如没有使用过的培养基可供选择，建议选用中乔新舟对应内皮细胞的专用培养基，如原代HUVEC完培：[PCM-H-040](#)；
5. 请严格按本说明书操作，不要混用其它试剂。

附表：内皮细胞培养体系推荐初始转染条件

| 培养皿                               |                                                       | 96孔板 | 48孔板 | 24孔板 | 12孔板 | 6孔板 | 10cm皿 |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------|------|------|------|------|-----|-------|
| 表面积 ( $\text{cm}^2$ )             |                                                       | 0.35 | 1.0  | 1.9  | 3.8  | 9.6 | 59    |
| 复合物包装<br>Trans buffer、试剂、DNA<br>量 | Trans buffer( $\mu\text{l}$ )                         | 10   | 20   | 40   | 80   | 160 | 800   |
|                                   | LTXFECT Huvec ( $\mu\text{l}$ )                       | 0.25 | 0.5  | 1.0  | 2.0  | 4.0 | 20    |
|                                   | 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ plasmid ( $\mu\text{l}$ ) | 0.2  | 0.4  | 0.8  | 1.6  | 3.2 | 16    |
| 内皮细胞专用培养基(ml)                     |                                                       | 0.12 | 0.25 | 0.5  | 1    | 2   | 10    |