

Effectene 转染试剂简易操作手册

Effectene转染试剂（cat. nos. 1054250, 301425, 301427, 1012829）需保存于2–8°C。

如果需要更多相关产品信息，请查阅Effectene Transfection Reagent Handbook（可在www.qiagen.com/handbooks下载）。

我们的技术服务电话是800 988 0325 或 400-880-0325，您可以在工作日的9:00-18:00致电咨询。

实验开始前的注意事项

此说明书是以 6 孔板中转染贴壁细胞为范例，若用其他规模的培养细胞，请参阅表 1。

转染时请确保细胞状态良好。

质粒 DNA 的质量对转染各方面（如转染效率、重复性、细胞毒性等）影响非常大。为了确保最佳的实验结果，我们推荐使用 QIAGEN 的 EndoFree Plasmid Kit (cat. nos. 12362 , 12381)。

Effectene 转染试剂和 DNA 的最佳比例可能会随细胞系及目标基因的不同而有所改变。表 2 列出了一些推荐的 DNA 与 Effectene 试剂比例。但不要改变 DNA 和 Enhancer 的比例（1:8）。

- 1、转染前一天，按每孔 $0.9-4 \times 10^5$ 细胞/1.6ml 培养基（可包含血清和培养基）的量将细胞植于 6 孔板中。
- 2、以常规条件（通常为 37 °C，5% CO₂）培养细胞过夜。转染时细胞的覆盖度应该 40–80%范围内。
- 3、转染前，在 0.4 µg 质粒 DNA（溶于 pH7–8 TE，DNA 浓度不要低于 0.1 µg/µl）中加入 Buffer EC，使得终体积为 100 µl。加入 3.2 µl Enhancer，涡旋震荡 1s 以混匀。
重要：始终保持 DNA 与 Enhancer 的比例为 1:8。
- 4、室温（15–25°C）放置 2–5 min，稍离心以使管盖上的液滴流回管底。
- 5、加入 10 µl Effectene，吹打 5 次或涡旋震荡 10s 以混匀。
注：Effectene 不必始终放在冰浴中，室温放置 10–15 min 不会影响其稳定性。
- 6、将样品置于室温 5–10 min 以使转染复合物形成。
- 7、在步骤 6 的过程中，轻轻吸去培养板中的培养基，用 3ml PBS 洗涤细胞 1 次。加入 1.6ml 新鲜培养基（可包含血清和抗生素）。
- 8、在转染复合物的管中加入 600 µl 培养基（可包含血清和抗生素），吹打 2 次混匀，立即滴入培养板中。轻晃培养板以混匀。
- 9、将混有转染复合物的细胞置于常规条件下培养，根据需要进行下游工作。
注：大部分情况下，不必移去转染复合体。但如果发现细胞毒现象，则可在转染后 6–18h 移去 Effectene–DNA 复合物，用 PBS 洗细胞一次，并加入 3ml 新鲜的培养基。

Table 1. Suggested volumes for transfection using Effectene Transfection Reagent with various multiwell formats

Step	1	3	3	3	5	8
Format	Number of seed cells	DNA (μ g)	Enhancer (μ l)	DNA-Enhancer mixture (μ l)	Effectene Transfection Reagent (μ l)	Medium added to complex (ml)
96-well plate	$0.5-2 \times 10^4$	0.1	0.8	30	2.5*	0
48-well plate	$1-4 \times 10^4$	0.15	1.2	50	4*	200
24-well plate	$2-8 \times 10^4$	0.2	1.6	60	5	350
12-well plate	$0.4-2 \times 10^5$	0.3	2.4	75	6	400
6-well plate	$0.9-4 \times 10^5$	0.4	3.2	100	10	600
60 mm dish	$2-8 \times 10^5$	1.0	8.0	150	25	1000

Table 2. Starting points for optimizing transfection of adherent cell lines in 6-well plates

Amount of DNA	0.2 μ g	0.2 μ g	0.2 μ g
Volume of Effectene Reagent	2 μ l	5 μ l	10 μ l
Volume of Enhancer	1.6 μ l	1.6 μ l	1.6 μ l
Amount of DNA	0.4 μ g	0.4 μ g	0.4 μ g
Volume of Effectene Reagent	4 μ l	10 μ l	20 μ l
Volume of Enhancer	3.2 μ l	3.2 μ l	3.2 μ l