
Test Protocol for Customers

一、 材料准备:

以 24 孔板培养为标准:

1. 细胞:

数量要求: $0.5-5 \times 10^5$ cells/well

10 μ L 体系, 贴壁细胞, 需要 $0.5-2 \times 10^5$ cells /well。

10 μ L 体系, 悬浮细胞, 需要 $0.5-5 \times 10^5$ cells /well。

Note: 保证细胞状态比较好, 密度在 70%-90%, 在实验当天消化细胞, 计数, 计算活率。

建议使用 Countess 细胞计数仪, 10 秒内获得准确的细胞量以及细胞存活率。

2. 质粒:

浓度要求: 1-5 μ g/ μ L, 10 μ L 体系加入的量不能超过 1 μ L, 根据下面具体的数据调整:

10 μ L 体系, 贴壁细胞, 加入的质粒量为 0.5 μ g/well。

10 μ L 体系, 悬浮细胞, 加入的质粒量为 1 μ g/well。

Note: DNA 纯度要高, 以去离子水或 TE 溶解。

建议使用 Invitrogen 的 PureLink HiPure plasmid kit 或者 PureLink HiPure plasmid filter kit 抽提质粒。

不建议使用国产试剂盒。

建议使用 Invitrogen 的 Qubit®3.0 对质粒浓度精确定量。

加入质粒的体积不能超过转染总体积的 10%。

3. siRNA (做 RNAi 的客户):

浓度要求: 500 μ M-1mM, 根据下面具体的数据调整:

10 μ L 体系, 贴壁细胞, siRNA 的终浓度为 100nM

10 μ L 体系, 悬浮细胞, siRNA 的终浓度为 200nM

Note: 高质量的 siRNA 双链, 溶于无核酸酶的水中。

建议使用 Invitrogen 的 stealth siRNA。

加入 siRNA 的体积不能超过转染总体积的 10%。

4. 培养基:

实验当天, 24 孔板中准备好含血清及添加剂, 不含抗生素的培养基 (与您需要转染细胞的一致的培养环境, 仅扣除抗生素), 500 μ L/孔, 37°C 孵育备用。

5. 耗材及试剂:

移液枪（至少 20/100/1000 μ L 各一支）一套；

灭菌的枪头（10/200/1000 μ L 各一盒）；

灭菌的 PBS 缓冲液，**不含钙镁离子**；

胰酶、血清及各种培养基添加剂等；

75% 酒精（棉球或喷壶都可以）；

灭菌的离心管（1.5mL 及 15mL 各一盒）；

未开封的 24 孔细胞培养板；

一次性无菌手套若干；

已经过紫外处理超净工作台或安全柜；

记号笔；

白大褂；

插线板（如电源离操作台面距离过远）；

低速离心机；

二氧化碳培养箱等常规设备。

二、 操作进行:

1. 仪器连接: **必须保证连接紧密**

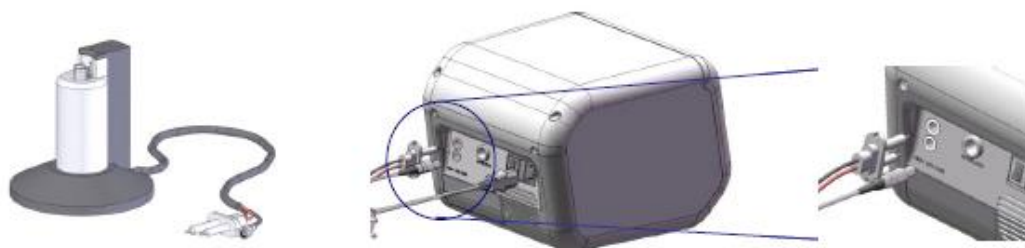
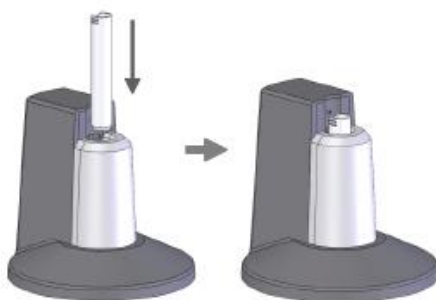


图 1, 移液枪基座与主机连接



图 2, 电源线与主机连接

2. Tube 管安装: **电极要对正（可听到咔嗒一声）**



如图 3，将 tube 管放置在基座上面，并加 3mL 的 E Buffer

3. 用移液枪安装一个 Tips，并吸取混匀的细胞和质粒（采用 R Buffer 重悬），放置到基座上：



4. 调整参数，按“Start”键：触摸屏上显示 Complete (完成)，说明电穿孔已完成



5. 取下移液枪，将样本转移到培养基中：



6. 其他样本操作一样，最后电转结束，将培养板放置于 37°C 培养箱中培养。仪器放回包装箱。
7. 用户根据自己试验安排进行结果观察或检测。如果对试验环节或者结果有疑问，可咨询 Technical Support。