

NEPA21 高效基因转染系统

一、EC-002S 中号电转杯：用于细胞悬浮方式电转染。

1. 细胞数量：

每个中号电转杯为100ul 体系：

含 10^6 cells (90ul) + **10ug 质粒 DNA** (1ug/ul , 10ul)。

其中质粒是过量的，细胞数量通常用 1×10^6 /杯；细胞准备不足时可适当调整用量，最少 5×10^5 /杯；对于比较敏感的细胞可适当加大细胞用量，可达 3×10^6 /杯，保证电转后存活细胞数量。

2. 细胞状态：

忌电转前24h 内传代，建议可提前2天左右传代，电转时细胞刚好处于对数期，细胞状态良好、活力旺盛。如果电击前细胞状态比较差，电转后则细胞死亡较多。

3. 试剂耗材：

不需特殊电转缓冲液，但需准备 **OPTI-MEM** 培养基（无血清无抗生素、且富含营养成分）。

质粒 DNA：浓度1ug/ul；纯度尽量高；去除内毒素。

另需准备细胞所用的正常培养基、6孔板或 dish 等。

二、电转杯重复使用处理方法：一般可重复使用数十次以上；执行电转程序”start”前，先按“Ω”测电阻，100ul 体系的电阻值通常在 35-55 欧左右，如果电转杯重复利用次数过多而损坏，电阻值会发生异常，则弃去此电转杯，换用新的电转杯进行实验。

1. 每次使用完毕后，及时用三蒸水清洗干净；
2. 杯内注满75%酒精浸泡消毒；
3. 于超净台或生物安全柜中，打开电转杯盖子倒出酒精，晾干（酒精完全蒸发掉）。可以打开紫外灯辅助灭菌。

详细实验步骤，另附 NEPA21悬浮转染 Protocol 文件。