

FuGENE® HD 转染试剂简明操作指导

注意：这是节选操作步骤，详细英文说明书TM328见
www.promega.com/protocols/

适用产品目录号：E2311、E2312

I. 说明：FuGENE®HD转染试剂采用专利的非脂质体配方，提供了一个高效、低毒的转染方法；不含任何人体或其他动物来源的组分，转染前细胞不用去血清培养，转染后不用更换培养基，最大限度的减少对细胞的外源性干扰；操作方便，简单易用，尽可能节省研究者宝贵的实验时间。

要获得最高的转染效率，通常情况下需要优化质粒与转染试剂的配比，尤其对于难转染细胞，优化后转染效率可能会有明显提升。但对于FuGENE®HD的首次使用者，可首先参考下面的表格，表格中列出的细胞已经过Promega公司验证，并提供已优化好的操作步骤，可直接用FuGENE®HD进行成功的转染。

已经过Promega公司验证的、可用FuGENE®HD进行成功转染的细胞：

NIH3T3	小鼠成纤维细胞	U937	人组织细胞淋巴瘤细胞
HEK293	人胚胎肾细胞	STSA90	人肉瘤细胞
CHO-K1	中国仓鼠卵巢细胞	AGS	人胃癌细胞
CHO-S	中国仓鼠卵巢细胞(悬浮细胞)	BHK-21	仓鼠肾成纤维细胞
SNU-16	人胃癌细胞	Caco-2	人结肠腺癌细胞
A-375	人黑色素瘤细胞	Caki-1	人肾透明细胞癌皮肤转移细胞
T98G	人恶性胶质瘤细胞	Capan-1	人胰腺癌细胞
HeLa	人宫颈癌细胞	H4	人神经胶质瘤细胞
HepG2	人肝癌细胞	HSMM	人骨骼肌成肌细胞(原代细胞)
High Five™	粉纹夜蛾细胞(昆虫细胞)	NCI-N87	人胃癌细胞
MCF-7	人乳腺癌细胞	Panc-1	人胰腺癌细胞
mES	小鼠胚胎干细胞(干细胞)	SK MEL-28	人黑色素瘤细胞
hES	人胚胎干细胞(干细胞)	SK-OV-3	人卵巢癌细胞
PC3	人前列腺癌细胞	T-24	人膀胱癌细胞
RAW264.7	小鼠巨噬细胞	T-84	人结肠癌细胞
SCC61	人头颈鳞癌细胞	U-87 MG	人脑星形胶质母细胞瘤细胞
SQ20B	人头颈鳞癌细胞	A549	人非小细胞肺癌细胞
STO	小鼠胚胎成纤维细胞	DMS 53	人小细胞肺癌细胞
U-2 OS	人肉瘤细胞	T47D	人乳腺腺癌细胞
COS-7	非洲绿猴SV40转化的肾细胞	Jurkat	人T淋巴细胞白血病细胞(悬浮细胞)
293F	人胚肾细胞	Huh7	人肝癌细胞

以上表格中所列的细胞种类，都可以使用在线工具 <http://cn.promega.com/resources/tools/fugene-hd-protocol-database/> 检索专用的操作步骤。输入培养板的类型和转染孔的个数，在线程序会为您自动输出专用于该细胞系的质粒、转染试剂用量及优化的操作方法，节省您宝贵的实验时间。

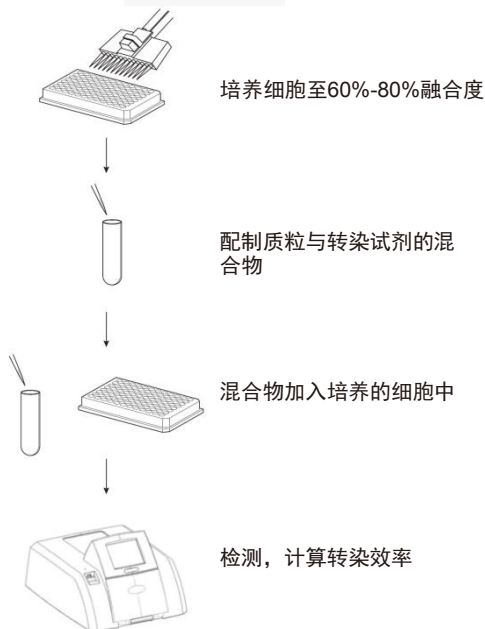
FuGENE® HD 转染试剂简明操作步骤

对于表格中未列出的细胞，采用以下步骤进行实验后，可寻找到适用于您所研究细胞的最佳质粒与转染试剂的配比：

II. 准备实验所需的细胞、试剂及耗材：

- 细胞：在合适的培养条件下（建议采用无抗生素培养基，可以含任意比例的血清），实验前细胞系培养至长满60%-80%，原代细胞培养至适当的时间；
- 转染试剂：使用前，将转染试剂放至室温，颠倒混匀 (FuGENE®HD转染试剂储存于4°C，如不慎将FuGENE®HD冰冻，融化后可能会看到不溶物。这时可将试剂短暂升温至37°C，颠倒混匀后不溶物消失)；
- 质粒：携带报告基因或荧光蛋白的质粒，用于计算转染效率；
- 无菌、无血清培养基：用于配制质粒与转染试剂的混合物；
- 无菌的枪头、离心管，超净工作台等。

简易流程图



III. 操作步骤

1. 将无血清培养基预热至室温，按下表的比例配制质粒与转染试剂的混合物：

	FuGENE® HD与质粒DNA的比例					
	4:1	3.5:1	3:1	2.5:1	2:1	1.5:1
培养基	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
质粒	2µg	2µg	2µg	2µg	2µg	2µg
FuGENE® HD	8µl	7µl	6µl	5µl	4µl	3µl

注意：FuGENE®HD应直接加入培养基中，不用沾到离心管的管壁上

2. 混合物室温静置10-15 min。
3. 将混合物滴加至培养的细胞中，96孔板每孔加入5µl，其他孔板的加入量可以按照右侧的表格进行计算。摇晃或吹打混匀。继续培养24-48 hr。
4. 检测转染效率。进行报告基因检测或计数表达绿色荧光蛋白的细胞数目，确定最佳的质粒与转染试剂的比例。

Plate Size	Growth Area (cm ²)	Relative Area
96 well	0.32	1X
24 well	1.88	5X
12 well	3.83	10X
6 well	9.4	30X
35mm	8.0	25X
60mm	21	65X
100mm	55	170X

注：FuGENE® HD转染试剂对细胞几乎没有毒性，遇到特别难转染的细胞，希望提高转染效率时，可以将混合物的加入量加倍至10µl/孔或15µl/孔（96孔板，其他培养板按培养面积放大）。