



细胞电转实验

一、操作步骤

1. 检测前准备工作

试剂耗材:

细胞培养基 DMEM 或 1640、FBS、0.25%胰蛋白酶 (自配, 无菌)、PBS (自配, 无菌)、电转缓冲液。

测试细胞: 根据实验分组提前准备好电转需要用到的细胞, 每个电转杯需要 1×10^5 - 1×10^6 个细胞。

其他准备: 用具准备电转仪器、电转杯 (1mm)、电转液、毛细管枪头、6 孔板、倒置荧光显微镜、移液器。

二、细胞实验流程

1. 细胞消化, 用 PBS 处理成细胞悬液, 计数, 离心 (1000rpm, 5min) 弃 PBS。
2. 用 850ul CellEasy 电转液重悬 10^7 cells, 每个电转杯加入的细胞悬液约 85uL, 细胞量为: 1×10^6 /电转杯。
- 3 细胞悬液中加入质粒 8.5ug(终浓度 10ug/mL), 混匀。
- 4 毛细管枪头移取 85ul 到电转杯, 从底部加入, 保证没有气泡, 气泡会影响电转效果。
- 5.调好仪器参数, 逐个电转, 电转结束后迅速加入少量培养基。
- 6.六孔板中提前加入 2ml 完全培养基, 电转细胞悬液吸出加入到孔板, 37℃培养箱静置培养 24-48h, 观察荧光蛋白表达, 计算电转效率; 电转后第 2 天观察细胞存活率。
- 7.依次操作完上述所有样品。
- 8.收拾台面, 电转杯及时清洗, 仪器归位。