
Lipo3000 Transfection Reagent

货号: AC1181 规格: 1.5mL

保存条件

2-4℃保存一年。(避免冷冻)。

产品简介

Lipo3000 采用了先进的脂质纳米颗粒技术,可实现绝佳转染性能和可重复性的结果。其可针对最广泛类型的常见及难转染细胞,实现超高转染效率,同时提供更高的细胞活力。Lipo3000 结合先进的脂质纳米颗粒技术,性质温和,毒性低,可优化整个转染过程,实现绝佳的转染性能的同时降低所需的试剂量。对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率。转染时血清的存在不影响转染效率。

适用范围: 贴壁细胞和悬浮细胞(哺乳动物细胞系)的转染。

产品优势:

- 卓越的转染效率,针对最广泛类型的难转染细胞,可将效率提升 3-10 倍。
- 作用温和,细胞毒性低,可改善细胞活力。
- 高性价比,提高效率的同时降低所需试剂量。

使用方法

建议转染之前进行预实验,确定最佳条件。

质粒 DNA 和 siRNA 的转染

转染 siRNA 时,可遵循质粒 DNA 的实验方案。

对大多数细胞来说,转染时高的细胞密度可以得到高的转染效率和表达水平,并能减少细胞毒性。

1. 接种细胞至 70-90%汇合度时转染
2. 使用 Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3000-B 试剂(建议用 2 管),充分混匀。
3. 使用 Opti-MEM 培养基稀释 DNA,制备 DNA 预混液,然后添加 Lipo3000-A 试剂,充分混匀。
4. 在每管已稀释的 Lipo3000-B 试剂中加入以上稀释的 DNA/Lipo3000-A 试剂(1:1 比例混合)。
5. 室温孵育 5-15 分钟。

6. 将混合液加入细胞中。

7. 37℃ 孵育培养。一般在转染 24-48 小时，靶基因即在细胞内表达。

细胞培养板		96-well/孔	24-well/孔	6-well/孔
1. 细胞汇合度		$1-4 \times 10^4$	$0.5-2 \times 10^5$	$0.25-1 \times 10^6$
2. Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3000-B 试剂(建议用 2 管)	Opti-MEM 培养基	5 μ l $\times$ 2	25 μ l $\times$ 2	125 μ l $\times$ 2
	Lipo3000-B	0.15 μ l 和 0.3 μ l	0.75 μ l 和 1.5 μ l	3.75 μ l 和 7.5 μ l
3. Opti-MEM 培养基稀释 DNA, 制备 DNA 预混液, 然后添加 Lipo3000-A 试剂, 充分混匀。	Opti-MEM 培养基	10 μ l	50 μ l	250 μ l
	DNA (0.5-5 μ g/ μ l)	0.2 μ g	1 μ g	5 μ g
	Lipo3000-A (2 μ l/ μ g DNA)	0.3-0.4 μ l	1.5-2 μ l	8-10 μ l
4. Lipo3000-B 试剂中加入以上稀释的 DNA/Lipo3000-A 试剂 (1: 1 比例混合)。	稀释 Lipo3000-B 试剂	5 μ l	25 μ l	125 μ l
	稀释/DNA Lipo3000-A 试剂	5 μ l	25 μ l	125 μ l
5. 室温孵育 5-15 分钟。				
6. 将混合液加入细胞中。		96-well/孔	24-well/孔	6-well/孔
	DNA-脂质体复合物/孔	10 μ l	50 μ	250 μ l
7. 37℃ 孵育培养。一般在转染 24-48 小时，靶基因即在细胞内表达。(转染作用 6 小时后更换含血清的培养基。)				

细胞转染注意事项

1. 转染时建议设置阳性对照和阴性对照。DNA 阳性对照可以用含有荧光基因的空载体，siRNA 可以用带荧光标记的 siRNA。
2. 转染试剂对个别细胞可能有一定毒性，在转染过程中由于提高了细胞通透性因此不能在培养基中添加抗生素。
3. 细胞的种类和状态影响转染效率，因此转染时细胞须处于良好的生长状态。
4. 如果是贴壁细胞，应保证贴壁在 12-24 小时进行转染，否则细胞容易脱壁。对于贴壁生长细胞，一般要求在转染前一日，必须应用胰酶处理成单细胞悬液，重新接种于培养皿或瓶，转染当日的细胞密度以 70-90% (贴壁细胞) 或 $2-4 \times 10^6$ /ml 为宜，最好在转染前 4 小时换一次新鲜培养液。

-
5. 质粒的大小, 质量和用量对转染效率很关键。过量的转染试剂会对细胞造成很大毒性。
 6. 转染作用 6 小时一定要换成含血清的培养基。
 7. 培养基中的血清: 开始准备 DNA 和转染试剂稀释液时要使用无血清的培养基, 因为血清会影响复合物的形成。其实, 只要在 DNA-转染试剂复合物形成时不含血清, 在转染过程中是可以使用血清的。
 8. 培养基中的抗生素: 抗生素是影响转染的培养基添加物。这些抗生素一般对于真核细胞无毒, 但阳离子脂质体试剂增加了细胞的通透性, 使抗生素可以进入细胞, 这会降低细胞活性, 导致转染效率降低。
 9. 一般在转染 24-48 小时, 靶基因即在细胞内表达。根据不同实验目的, 24-48 小时后即可进行靶基因表达的检测实验。
 10. 如若建立稳定的细胞系, 则可对靶细胞进行筛选, 根据不同基因载体中所含有的抗性标记选用相应的药物。常用的真核表达载体筛选标记有潮霉素和新霉素等。