

Lipo3000 Transfection Reagent

货号：AC1181 规格：1.5mL

保存条件

2-4°C保存一年。(避免冷冻)。

产品简介

Lipo3000 采用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，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°C 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		1-4×10 ⁴	0.5-2×10 ⁵	0.25-1×10 ⁶
2. Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3000-B 试剂	Opti-MEM 培养基	5 μL	25 μL	125 μL
	Lipo3000-B	0.3 μL	1.5 μL	7.5 μL
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	5 μL	25 μL	125 μL
	DNA(0.5-5 μg/μL)	0.2 μg	1 μg	5 μg
	Lipo3000-A(2 μL/μg DNA)	0.2 μL	1 μL	5 μL
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 μL	25 μL	125 μL
	稀释/DNA Lipo3000-A 试剂	5 μL	25 μL	125 μL
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 μL	50 μL	250 μL
7. 37°C 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。)				

常用规格系数如下表所示

培养容器	共用试剂		DNA 转染			siRNA 转染		
	培养基体积	Opti-MEM 体积	DNA (μg)	Lipo3000-A 试剂 (μL)	Lipo3000-B 试剂 (μL)	siRNA (pmol)	Lipo3000-A 试剂 (μL)	Lipo3000-B 试剂 (μL)
96 孔	100 μL	2×5 μL	0.1	0.2	0.3	3	0.2	0.3
48 孔	250 μL	2×12.5 μL	0.25	0.5	0.75	7.5	0.5	0.75
24 孔	500 μL	2×25 μL	0.5	1	1.5	15	1	1.5
12 孔	1 mL	2×50 μL	1	2	3	30	2	3
6 孔	2 mL	2×125 μL	2.5	5	7.5	75	5	7.5

常见细胞已验证的转染效率（仅供参考）

细胞类型	HEK293	HCT116	WRL-68	HepG2	NIH/3T3	THP-1	HeLa	MCF-7	293T	TS	HO1980	A549	293F	CHO-2
转染效率	>90%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>90%	>70%	>70%	>80%	>90%	>90%
细胞类型	Hep2C	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	MEF	Calu1	MDCK	WEHI	B50	HUVEC	L929	BE(2)C	CHO
转染效率	>80%	>60%	>80%	>80%	>70%	>60%	>70%	>80%	>80%	>70%	>80%	>70%	>80%	>90%

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 $2-4 \times 10^6/\text{ml}$ 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。