

LipoP30 转染试剂

产品使用说明书 (Version 4.2)

产品名称: LipoP30 转染试剂

英文名称: LipoP30 Transfection Reagent

货号规格: UR51031 (0.75 mL)

UR51032 (1.5 mL)

运输存储: 2-4°C保存, 避免冷冻, 有效期一年

产品描述:

LipoP30 转染试剂采用先进的脂质纳米颗粒技术, 能实现绝佳的转染性能和可重复性的结果。可针对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。

LipoP30 性质温和、毒性低, 优化了转染过程中的全部四个步骤, 并结合先进的脂质纳米颗粒技术, 通过绝佳的转染性能减少试剂用量, 以降低对细胞产生毒性的风险。转染时血清的存在不影响转染效率。

产品组分:

组分	UR51031	UR51032
LipoP30-A	0.75 mL	1.5 mL
LipoP30-B	0.75 mL	1.5 mL

产品优势:

- 1、卓越的转染效率, 针对广泛类型的难转染细胞, 可将效率提升 3 ~ 10 倍;

- 2、作用温和, 细胞毒性低, 可改善细胞活力。

适用范围:

贴壁细胞和悬浮细胞 (哺乳动物细胞系)。

使用方法:

注: 每次转染前需进行预实验, 以摸索最佳条件, 尤其是转染试剂的最佳用量。以下以 DNA 转染为例, RNA 转染遵循 DNA 方案。

- 1、接种细胞至 70-90% 汇合度时转染。对大多数细胞来说, 转染时高细胞密度可以得到较高的转染效率, 并能减少细胞毒性;
- 2、使用 Opti-MEM 培养基稀释 LipoP30-B 试剂 (建议设置 2 个梯度), 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 LipoP30-A 试剂, 充分混匀;
- 4、在每管已稀释的 LipoP30-B 试剂中加入第 3 步中稀释的 DNA 混合液 (1:1 比例);
- 5、室温孵育 5 ~ 15 分钟;
- 6、加入 DNA-脂质体复合物至细胞中;
- 7、37°C 孵育细胞 2 - 4 天, 然后分析转染细胞。

注: 对部分敏感细胞, 建议转染 6-8 小时后更换新培养基, 以降低细胞毒性。

Umibio Science and Technology Group

上海公司地址: 上海市浦东新区青黛路 800 号 绍兴公司地址: 浙江省绍兴市越城区天姥路 1 号
电 话: 4006-166-973 021-60521508 QQ: 3423485078; 网 址: www.umibio.cn

操作步骤表

细胞培养容器		96-well	24-well	6-well
贴壁细胞数量		$1 \sim 4 \times 10^4$	$0.5 \sim 2 \times 10^5$	$0.25 \sim 1 \times 10^6$
步骤1 (建议设2个梯度) Opti-MEM培养基稀释 LipoP30-B试剂	Opti-MEM培养基	5 μ L	25 μ L	125 μ L
	LipoP30-B试剂 ⁽¹⁾	0.15, 0.3 μ L	0.75, 1.5 μ L	3.75, 7.5 μ L
步骤2 Opti-MEM培养基稀释 DNA, 然后添加 LipoP30-A试剂, 混匀	Opti-MEM培养基	5 μ L	25 μ L	125 μ L
	DNA	0.1 μ g	0.5 μ g	2.5 μ g
	LipoP30-A试剂 (2 μ L每 μ g DNA)	0.2 μ L	1 μ L	5 μ L
步骤3 LipoP30-B稀释液中加入 步骤2中稀释的DNA 混合液 (1:1比例)	稀释的DNA (步骤2产物)	5 μ L	25 μ L	125 μ L
	稀释的LipoP30-B (步骤1产物)	5 μ L	25 μ L	125 μ L
步骤3得到混合物即是DNA-脂质体复合物, 室温孵育5 ~ 15分钟				
加入 DNA-脂质体复合物至细胞中	细胞培养容器	96-well	24-well	6-well
	DNA-脂质体复合物	10 μ L	50 μ L	250 μ L
37°C孵育细胞2-4天, 然后分析转染细胞				

⁽¹⁾建议设 2 个梯度, 根据实验方案确定最佳用量。

常见的转染规格系数 (仅供参考)

培养容器	倍增系数 ⁽¹⁾	共用试剂			DNA 转染		RNA 转染	
		培养基体积	Opti-MEM 培养基体积	LipoP30-A (μ L)	DNA (μ g)	LipoP30-B ⁽²⁾ (μ L)	RNA (pmol)	LipoP30-B ² (μ L)
96 孔	0.17	100 μ L	2 $\times$ 5 μ L	0.2	0.1	0.15, 0.3	3	0.3
48 孔	0.50	250 μ L	2 $\times$ 12.5 μ L	0.5	0.25	0.37, 0.75	7.5	0.75
24 孔	1.00	500 μ L	2 $\times$ 25 μ L	1	0.5	0.75, 1.5	15	1.5
12 孔	2.00	1 mL	2 $\times$ 50 μ L	2	1	1.5, 3	30	3
6 孔	5.00	2 mL	2 $\times$ 125 μ L	5	2.5	3.75, 7.5	75	7.5
6 cm	11.05	5 mL	2 $\times$ 250 μ L	11-22	5.5-11	8.25, 16.5	166	16.5
10 cm	28.95	10 mL	2 $\times$ 500 μ L	28-56	14-28	21.7, 43.4	434	43.4
T75	39.47	15 mL	2 $\times$ 750 μ L	40-80	20-40	29.6, 59.2	592	59.2
T175	92.11	35 mL	2 $\times$ 1750 μ L	92-180	46-90	69, 138	1382	138

⁽¹⁾确定试剂最佳用量后, 可使用倍增系数确定新反应板所需的试剂用量。

⁽²⁾根据实验方案确定最佳用量。

Umibio Science and Technology Group

上海公司地址: 上海市浦东新区青黛路 800 号 绍兴公司地址: 浙江省绍兴市越城区天姥路 1 号

电 话: 4006-166-973 021-60521508 QQ: 3423485078; 网 址: www.umibio.cn

常见细胞的转染效率（仅供参考，实验条件不同转染效率会有较大差别）

细胞种类	HEK293	293T	293F	HCT 116	WRL -68	HepG2	THP-1
转染效率	>90%	>90%	>90%	>80%	>80%	>80%	>70%
细胞种类	Hela	MCF-7	CHO-S	TS cell	HO1980	A549	MEF
转染效率	>80%	>80%	>90%	>70%	>70%	>80%	>60%
细胞种类	BE(2)C	CHO	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	HUVEC
转染效率	>80%	>90%	>60%	>80%	>80%	>70%	>80%
细胞种类	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929	
转染效率	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%	——

注意事项：

- 1、细胞/DNA/siRNA 每批次都不同，建议每次转染都进行预实验以摸索最佳条件，尤其是转染试剂的最佳用量。
- 2、转染效率不高的可能因素：DNA/siRNA、转染试剂和细胞。没有荧光的 DNA 或 siRNA 可以用带荧光标记的对照品参照，确实转染效率低的可以考虑更换其他种类的转染试剂，毒性大则要减少转染试剂的用量并及时换液。
- 3、细胞的种类和状态影响较大：转染时细胞必须处于良好生长状态，转染时细胞的密度一般铺板率在达到 70-90%较好（此时细胞处于对数生长期）。
- 4、对于贴壁细胞，一般要求在转染前一日消化并重新接种于培养皿或培养瓶，并在贴壁 12 ~ 24 小时后再进行转染，否则转染后细胞容易脱壁，最好在转染前 4h 更换新鲜培养液。转染当日的细胞密度以 70-90%（贴壁细胞）或 2×10^6 - 4×10^6 细胞/mL（悬浮细胞）为宜。
- 5、质粒的大小、质量和用量对转染效率具有关键作用。
- 6、转染时注意脂质体的用量，过量的话对细胞毒性大也容易失败。
- 7、如使用无血清培养基转染，转染 6 小时后需要更换为含血清培养基。
- 8、稀释用的 Opti-MEM 培养基要无血清无双抗。
- 9、转染试剂对个别细胞可能存在一定毒性，在转染过程中由于提高了细胞的通透性因而不能在培养基中添加抗生素。
- 10、高纯度的 DNA 可获得较高的转染效率。用于转染的质粒 DNA 必须无蛋白质，无 RNA 和其他化学物质的污染，OD260/280 比值应在 1.8-1.9 之间。血清中含有大量的蛋白质，在转染过程中，带负电的蛋白质可能干扰阳离子脂质体对核酸的吸附，影响转染效率。另外，使用脂质体等转染试剂时，由于含血清转染会将血清中的蛋白带入细胞引发细胞毒性，导致转染效率降低，故用无血清培养基转染效果更好！
- 11、培养基中的血清：在开始准备 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 DNA-转染试剂复合物的形成，复合物形成之后即可使用血清。
- 12、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。这降低了细胞的活性，导致转染效率降低。
- 13、一般在转染 24-48h，靶基因即在细胞内表达。根据不同的实验目的，24-48h 后即可进行靶基因表达的检测实验。
- 14、建议设置阳性对照和阴性对照，以判断体系稳定性。

Umibio Science and Technology Group

上海公司地址：上海市浦东新区青黛路 800 号 绍兴公司地址：浙江省绍兴市越城区天姥路 1 号

电话：4006-166-973 021-60521508 QQ: 3423485078; 网址：www.umibio.cn