

名称：Lipo3000 转染试剂  
英文：Lipo3000 Transfection Reagent  
货号：C1055  
规格：100ul/0.75ml/1.5ml  
温度保存：4℃保存一年，（避免冷冻）。

## 一、产品描述

Lipo3000 转染试剂采用了纳米颗粒(Lipid Nanoparticle)LNP 技术，利用脂质形成纳米微粒将核酸包裹起来形成核酸脂质纳米粒，实现高转染性和可重复性的实验结果。其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。Lipo3000 转染试剂对大多数细胞毒性低并且性质温和，并且我们优化了转染过程的全部四个步骤，并结合富百科脂质体纳米颗粒(LNP)递送技术，实现了较高的转染性能并可以降低所需的试剂量，同时尽可能降低对细胞系产生毒性的风险。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的优点。

适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

- 1) 卓越的转染效率—针对较难转染细胞，可将效率提升 2~10 倍
- 2) 作用温和，细胞毒性低—可改善细胞活力
- 3) 高性价比高，同时实现更好的转染结果

**使用方法：（每次转染一定要进行预实验，来摸索最佳条件，尤其是转染试剂的最佳用量！）**

### DNA 的转染

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. 按照下表使用 Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3000®-B 试剂(建议同时用 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 试剂中加入稀释的 DNA（1:1 比例）。
5. 室温孵育 5 分钟。
6. 加入 DNA-脂质体复合物至细胞中。
7. 37℃孵育细胞 2 - 4 天。然后分析转染细胞。

### siRNA 转染

转染 siRNA 至细胞中时，遵循如上所述的 DNA 实验方案，但在稀释 siRNA 时不要加入 Lipo3000®-A 试剂(第 3 步)。

细胞培养容器		96-well	24-well	6-well
贴壁细胞		1~4 × 10 <sup>4</sup>	0.5~2 × 10 <sup>5</sup>	0.25~1 × 10 <sup>6</sup>
Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3000®-B 试剂  (建议同时用 2 管)	Opti-MEM 培养基	5 μL × 2	25 μL × 2	125 μL × 2
	Lipo3000®-B	0.15 和 0.3 μL	0.75 和 1.5 μL	3.75 和 7.5 μL
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 μL	50 μL	250 μL
	DNA (0.5–5 μg/μL)	0.2 μg	1 μg	5 μg
	Lipo3000®-A 试剂(2 μL/μg DNA)	0.4 μL	2 μL	10 μL
Lipo3000®-B 试剂中加入 稀释的 DNA (1:1 比例)	稀释的 DNA	5 μL	25 μL	125 μL
	稀释的 Lipo3000®-B	5 μL	25 μL	125 μL
室温孵育 5 分钟				
加入 DNA-脂质体复合物 至细胞中		96-well	24-well	6-well
	DNA-脂质体复合物	10 μL	50 μL	250 μL
37°C 孵育细胞 2–4 天。然后分析转染细胞。				

**细胞转染注意事项：细胞/DNA/siRNA 每次都不同，建议每次转染一定要进行预实验来摸索最佳条件, 尤其是转染试剂的最佳用量！**

- 1) 转染试验失败需要找一下原因：DNA/siRNA，转染试剂和细胞。转染效率低要先排除一下是否是 siRNA 的问题，如果 siRNA 无效，换再好的转染试剂也没意义，可以用带荧光标记的 control siRNA 做一下看看，转进去的话会有荧光的。确实转染效率低，可以考虑换转染试剂；毒性大则要减少转染试剂的用量。
- 2) 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—80% 最好（此时细胞处于对数生长期）；
- 3) 如果是贴壁细胞，应保证贴壁在 12~24 小时在进行转染，否则细胞转染容易脱壁。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 × 10<sup>6</sup>–4 × 10<sup>6</sup> 细胞/ml（悬浮细胞）为宜，最好在转染前 4h 换一次新鲜培养液。
- 4) 质粒的大小，质量和用量对转染效率很关键。
- 5) 转染时注意脂质体和用量，过量的话对细胞毒性大也容易失败。
- 6) 转染作用 6 小时一定记得要换含血清的培养基
- 7) 培养基以及洗涤细胞和稀释用的培养基要无血清、无双抗。

- 8) 转染试剂对个别细胞可能有一定毒性，在转染过程由于提高细胞的通透性因而不能在培养基中添加抗生素。
- 9) 高纯度的 DNA 或 RNA 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 以上。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！
- 10) 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。
- 11) 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。
- 12) 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。
- 13) 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志选用相应的药物，常用的真核表达基因载体的标志物有潮霉素和新霉素等。
- 14) 建议设置阳性对照和阴性对照。

#### **特别提醒：**

- 1) 本公司所有产品仅限于专业人员用于生命科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅。
- 2) 本公司所有产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程！