



Liposome Transfection Reagent Plus

CP401

产品概述

Product Overview

Liposome Transfection Reagent Plus 是一种多用途的脂质体转染试剂，用于向几乎所有常见细胞系和多种难以转染的细胞系中进行 DNA、siRNA 和 mRNA 的转染。支持快速转染程序，缩短转染时间，适配高通量、自动化筛选。

产品组成

Product Composition

组 分	CP401s	CP401
Liposome Transfection Reagent Plus	0.1 mL	1.5 mL

注意事项

Precautions

- 为降低细胞毒性，细胞铺板时需要更换不含抗生素的培养基。对于质粒 DNA 转染，细胞密度需达到 70 ~ 90%，有些细胞在密度偏低时容易出现细胞毒性；
- 制备核酸稀释液和转染试剂稀释液时应使用减血清的 Opti-MEM™ 培养基或不含血清和抗生素的培养液，因为血清会影响核酸与转染试剂复合物的形成；
- 一般情况下，转染后无需更换培养基。然而，有些细胞对转染试剂比较敏感，如果在转染后状态不佳，可在 4 ~ 6 h 后对细胞进行换液，转染效率无明显影响；
- 首次使用该试剂或者更换细胞类型，特别是对转染试剂敏感的细胞，需要进行预实验，使用不同剂量的转染试剂进行实验，以便摸索出最适转染试剂用量。DNA 转染量可以在 DNA: Liposome Transfection Reagent Plus ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) = 1:1 ~ 1:5 之间摸索。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套；
- 本产品仅用于科研。

操作流程

Operation Process

➤ DNA 转染

(以 24 孔板转染 DNA 为例)

Day 1:

在 500 μL 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板，使得转染时的细胞汇合度达到 70 ~ 90%。

Day 2:

- 制备 DNA 稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管，向 25 μL Opti-MEM™ 培养基中加入 0.5 μg DNA 后轻柔混匀，得到 DNA 稀释液；

2. 制备转染试剂稀释液: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ 培养基中加入 1 μ L Liposome Transfection Reagent Plus, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 min;
3. DNA-脂质体复合物制备: 将 DNA 稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 分钟, 形成 DNA-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
4. 将 DNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以十字交叉的方式轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4~6 h 后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 24~48 h。

优化 DNA 转染: 为获得较高的转染效率和较低的细胞毒性, 通过改变细胞密度以及 DNA 和 Liposome Transfection Reagent Plus 浓度来优化转染条件。确保细胞汇合度大于 90%, 并在 1:0.5 至 1:5 的范围内改变 DNA (μ g) : Liposome Transfection Reagent Plus (μ L) 的比值。

➤ siRNA 转染

(以 24 孔板转染 siRNA 为例)

Day 1:

在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 30~50%。

注: 在更低密度时进行转染可以让转染和检测之间的时间间隔更长, 并且使因细胞过量生长造成的细胞活力损失更小。

Day 2:

1. 将 siRNA 的储液用 DEPC 水稀释到 20 μ M;
2. 制备 siRNA 稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 1 μ L siRNA (20 μ M) 后轻柔混匀, 得到 siRNA 稀释液;
3. 制备转染试剂稀释液: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 1 μ L Liposome Transfection Reagent Plus, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 min。
4. siRNA-脂质体复合物制备: 将 siRNA 稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 min, 形成 siRNA-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
5. 将 siRNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4~6 h 后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 48~96 h。

优化 siRNA 转染: 为获得较高的转染效率和较低的非特异性效应, 通过改变 siRNA 和 Liposome Transfection Reagent Plus 浓度来优化转染条件。对于 24 孔板, 在 10~50 pmol siRNA 和 0.5~1.5 μ L Liposome Transfection Reagent Plus 范围内优化转染条件。根据靶基因和靶细胞的性质, 在优化条件时也可考虑以更高密度转染细胞。

➤ mRNA 转染

(以 24 孔板转染 mRNA 为例)

Day 1:

在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70~90%。

Day 2:

1. 制备 mRNA 稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 0.8 μ g mRNA 后轻柔混匀, 得到 mRNA 稀释液;
2. 制备转染试剂稀释液: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 1.6 μ L Liposome Transfection Reagent Plus, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 min;
3. mRNA-脂质体复合物制备: 将 mRNA 稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 min, 形成 mRNA-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
4. 将 mRNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4~6 小时后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 24~48 h。

优化 mRNA 转染: 为获得较高的转染效率和较低的细胞毒性, 通过改变细胞密度以及 mRNA 和 Liposome Transfection Reagent Plus 浓度来优化转染条件。确保细胞汇合度大于 90%, 并在 1:0.5 至 1:5 的范围内改变 mRNA (μ g) : Liposome Transfection Reagent Plus (μ L) 比。

扩大或缩小转染规模: 在不同规格培养容器中转染细胞, 按表中所示根据相对表面积按比例改变 Liposome Transfection Reagent Plus、核酸、细胞和培养基的用量。对于自动化、高通量系统, 在 96 孔板中进行转染时, 建议采用 10 μ L 的稀释体积。

建议的试剂用量和体积:

细胞培养板	培养基体积	稀释液体积	DNA 转染体系		siRNA 转染体系		mRNA 转染体系	
			DNA	CP401	siRNA	CP401	mRNA	CP401
96 孔板	100 μ L	2 \times 5 μ L	0.1 μ g	0.2 μ L	5 pmol	0.25 μ L	0.2 μ g	0.4 μ L
24 孔板	500 μ L	2 \times 25 μ L	0.5 μ g	1 μ L	20 pmol	1 μ L	0.8 μ g	1.6 μ L
12 孔板	1 mL	2 \times 50 μ L	1.0 μ g	2 μ L	40 pmol	2 μ L	1.6 μ g	3.2 μ L
6 孔板	2 mL	2 \times 100 μ L	2.5 μ g	5 μ L	100 pmol	5 μ L	4 μ g	8 μ L
6-cm 板	3 mL	2 \times 200 μ L	5 μ g	10 μ L	200 pmol	10 μ L	8 μ g	16 μ L
10-cm 板	10 mL	2 \times 500 μ L	15 μ g	30 μ L	600 pmol	30 μ L	24 μ g	48 μ L

► DNA、siRNA / shRNA 质粒共转染

(以 24 孔板共转染 DNA、siRNA 为例的操作步骤)

Day 1:

在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 使得转染时的细胞汇合度达到 70 ~ 90%。

Day 2:

1. 建议将 siRNA 的储液用 DEPC 水稀释到 2 μ M (视情况而定);
2. 核酸稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 100 ng 质粒 DNA 和 2.5 μ L siRNA (2 μ M) 后轻柔混匀, 得到核酸稀释液;
3. 制备转染试剂稀释液: 另取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 1 μ L Liposome Transfection Reagent Plus, 轻柔混匀, 得到转染试剂稀释液, 室温静置 5 min。
4. 制备核酸-脂质体复合物: 将核酸稀释液和转染试剂稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 10 min, 形成核酸-脂质体复合物 (溶液可能变得浑浊);
5. 将核酸-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4 ~ 6 h 后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 24 ~ 48 h。

建议的试剂用量和体积:

细胞培养板	培养基体积	稀释液体积	质粒 DNA(ng)	siRNA/shRNA 质粒(pmol/ng)	CP401
96 孔板	100 μ L	2 \times 5 μ L	10-100 ng	0.1-1 pmol/150-300 ng	0.2-0.5 μ L
48 孔板	200 μ L	2 \times 1.25 μ L	50-100 ng	0.5-5 pmol/150-300 ng	0.3-0.8 μ L
24 孔板	500 μ L	2 \times 25 μ L	100-200 ng	1-10 pmol/300-600 ng	0.5-1.5 μ L
12 孔板	1 mL	2 \times 50 μ L	200-500 ng	2-25 pmol/600-1500 ng	1-2.5 μ L
6 孔板	2 mL	2 \times 200 μ L	500-1000 ng	5-50 pmol/1500-3000 ng	2.5-6 μ L

► 快速转染程序 (反向转染)

对于高通量、自动化筛选等一些实验场景, 我们推荐使用快速转染程序。您可以通过将细胞直接铺板到转染混合物中, 进行快速 96 孔板转染。在平板中制备复合物, 并向 100 μ L 体积中直接添加密度为基础方案中规定的细胞密度的两倍的细胞。在存在复合物的情况下, 细胞将照常贴壁。

注: 对于更大规模的转染, 也可尝试快速转染程序, 以缩短实验周期。

保存条件

Storage Conditions

2 ~ 8°C 保存, 不可冷冻, 冰袋运输。