



Liposome Transfection Reagent 3000

CP402

产品概述

Product Overview

Liposome Transfection Reagent 3000是一款多用途的脂质体转染试剂，能够与DNA或RNA形成脂质复合物，可转染多种不同的贴壁或悬浮细胞。与CP401相比，具有更小的细胞毒性，在一些难以转染的细胞和常规细胞上表现出更高的转染效率。

产品组成

Product Composition

组 分	CP402s	CP402
Liposome Transfection Reagent 3000	0.05 mL	1.5 mL
Liposome Enhancer Reagent	0.05 mL	1.5 mL

注意事项

Precautions

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套；
2. 本产品仅用于科研。

操作流程

Operation Process

➤ DNA 转染

(以 24 孔板转染 DNA 为例的操作步骤)

Day 1:

贴壁细胞: 转染前一天, 在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 铺板密度 $0.5 \sim 2 \times 10^5$ cells/mL, 使得转染时的细胞汇合度达到 70% ~ 90%;

Day 2:

注意: 悬浮细胞的铺板是在当天制备转染复合物前, 在 500 μ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 铺板密度 $4 \sim 8 \times 10^5$ cells/mL。

1. 制备转染试剂稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEMTM I 培养基中加入 1 μ L Liposome Transfection Reagent 3000。轻柔混匀后室温孵育。
2. 制备 DNA 稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μ L Opti-MEMTM I 培养基中加入 0.5 μ g DNA。随后加入 1 μ L Liposome Enhancer Reagent。轻柔混匀后室温孵育。
3. DNA-脂质体复合物制备: 将稀释后的DNA/ Liposome Enhancer Reagent 混合物加入到稀释后的转染试剂中, 轻柔混匀后室温放置10~15 min。
4. 将 DNA-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 48 ~ 96 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 3000 的浓度来优化转染条件。确保细胞汇合度大于 90%, 并在 DNA : Liposome Transfection Reagent 3000 : Liposome Enhancer Reagent = 1:1:2 ~ 1:4:2 的范围内进行调整。

► siRNA 转染

(以 24 孔板转染 siRNA 为例的操作步骤)

Day 1:

贴壁细胞: 转染前一天, 在 500 μL 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 铺板密度 $0.5 \sim 2 \times 10^5$ cells/mL, 使得转染时的细胞汇合度达到 60% ~ 80%。

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:

注意: 悬浮细胞的铺板是在当天制备转染复合物前, 在 500 μL 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 铺板密度 $4 \sim 8 \times 10^5$ cells/mL。

1. 将 siRNA 的储液用 DEPC 水稀释到 20 μM ;
2. 制备转染试剂稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μL Opti-MEM™ I 培养基中加入 1 μL Liposome Transfection Reagent 3000。轻柔混匀后室温孵育。
3. 制备 siRNA 稀释液: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 μL Opti-MEM™ I 培养基中加入 1 μL siRNA (20 μM)。轻柔混匀后室温孵育。
4. siRNA-脂质体复合物制备: 将 siRNA 稀释液加入到稀释后的转染试剂中, 轻柔混匀后室温放置 10 ~ 15 min。
5. 将 siRNA-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 48 ~ 96 h。

优化 siRNA 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 siRNA 和 Liposome Transfection Reagent 3000 的浓度来优化转染条件。对于 24 孔板, 在 10 ~ 50 pmol siRNA 和 0.5 ~ 1.5 μL Liposome Transfection Reagent 3000 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 的转染步骤可以参考 siRNA 的转染步骤, 在准备转染复合物的时候也不需要添加 Liposome Enhancer Reagent。

建议的试剂用量和体积:

细胞培养板	表面积 (cm^2)	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	Lipo 3000	Enhancer	siRNA	Lipo 3000	mRNA	Lipo 3000
96 孔板	0.3	100 μL	2 \times 5 μL	0.1 μg	0.15~0.3 μL	0.2 μL	5 pmol	0.25 μL	0.2 μg	0.25 μL
24 孔板	2	500 μL	2 \times 25 μL	0.5 μg	0.75~1.5 μL	1 μL	20 pmol	1 μL	0.8 μg	1 μL
12 孔板	4	1 mL	2 \times 50 μL	1.0 μg	1.5~3.0 μL	2 μL	40 pmol	2 μL	1.6 μg	2 μL
6 孔板	10	2 mL	2 \times 125 μL	2.5 μg	3.75~7.5 μL	5 μL	100 pmol	5 μL	4 μg	8 μL

保存条件

Storage Conditions

2 ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 不可冷冻, 冰袋运输。