

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01198

产品规格

50 μ L、0.75mL、1.5mL

产品介绍

细胞转染是指将外源分子如 DNA、RNA 等导入真核细胞的技术。随着分子生物学和细胞生物学研究的不断发展，转染技术已成为研究和控制真核细胞基因功能的常规工具。在研究基因功能、调控基因表达、突变分析和蛋白质生产等生物学试验中，其应用越来越广泛。低毒型 Lipo7000 转染试剂 相较于 高效型 Lipo9000 转染试剂 来讲，对细胞毒性更低，更适用于对毒性敏感的细胞转染，适用于把质粒、siRNA 或其它形式的核酸包括 DNA、RNA、寡核苷酸转染到真核细胞中。

以 96 孔板转染单个 DNA 质粒计算，0.75 mL 的 低毒型 Lipo7000 转染试剂可做 1500 个孔。

应用范围

质粒 DNA 转染、siRNA 转染

储运条件

4℃ 保存，有效期见外包装（避免冷冻）；冰袋运输。

产品特点

转染效率高：转染过表达质粒后，通常 24~48 h 后达到较高的蛋白表达水平；

安全性高：细胞毒性低，更适用于对毒性敏感的细胞转染；

适用范围广：对于常见的哺乳动物细胞具有非常高的转染效率并且对于贴壁细胞和悬浮细胞都适用；

核酸载量高：支持多种核酸分子的共递送，提升整体转染效率；

受血清影响小：基本不受细胞培养液中血清影响，可以在血清存在的情况下进行细胞转染。

注意事项

- 1.使用高纯度的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率。
- 2.转染前细胞必须处于良好的生长状态。
- 3.需自备不含抗生素的无血清培养液或 Opti-MEM® 培养液或普通的 DMEM 培养液。
- 4.低毒型 Lipo7000 转染试剂不能 Vortex 或离心，宜缓慢晃动混匀。
- 5.低毒型 Lipo7000 转染试剂使用后请立即盖好盖子，避免长时间暴露在空气中，影响转染效率。
- 6.本产品仅限于科研，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内。
- 7.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

1.DNA 转染

下列步骤适用于 24 孔板培养的哺乳动物细胞，至于其他培养材料，请参考转染规模调整，所有数量和体积均是按孔计算。大部分细胞系所使用的 DNA (μ g) 与 低毒型 Lipo7000 转染试剂 (μ L) 的比值为 1: 2 到 1: 3，转染高密度细胞可获得高转染效率、高表达水平和低细胞毒性。优化转染是必需的（见优化质粒 DNA 转染）。

(1) 贴壁细胞：转染前一天每孔 $0.5\sim2\times 10^5$ 个细胞接种于 500 μL 不含抗生素的培养基中，在转染时细胞可长至 70~90% 汇合度。

(2) 悬浮细胞：在配制转染液前每孔 $4\sim8\times 10^5$ 个细胞接种于 500 μL 不含抗生素的培养基中。

(3) 转染液制备，每孔细胞用量如下：

1) 用 50 μL Opti-MEM 低血清培养基（或者其他无血清培养基）稀释质粒 DNA，轻轻混匀。

2) 使用前轻轻摇匀低毒型 Lipo7000 转染试剂，然后取适量低毒型 Lipo7000 转染试剂在 50 μL Opti-MEM 培养基中稀释，室温孵育 5 min。注意：请在 25 min 内进行下一步操作。

3) 将前两步所稀释的 DNA 和低毒型 Lipo7000 转染试剂混合（使总体积为 100 μL ），轻轻混匀，室温放置 20 min（溶液可出现浑浊）。

注：转染复合物常温下可在 6 h 内保持稳定。

(4) 在每孔细胞中加入 100 μL 转染液，轻轻摇匀。

(5) 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 18~48 h 后检测基因表达，转染 4~6 h 后可更换培养基。

对于稳定转染，在转染 24 h 后以 1:10 稀释接种于新鲜培养基中，第二天可加入选择培养基。

2.优化 DNA 转染

可通过改变细胞密度、质粒 DNA 密度和低毒型 Lipo7000 转染试剂浓度以优化转染。要保证细胞融合在 90% 以上，DNA (μg): 低毒型 Lipo7000 转染试剂 (μL) 可在 1:0.5 到 1:5 之间进行调整。

3.RNAi 或 siRNA 转染

下列步骤适用于 24 孔板培养的哺乳动物细胞，至于其他培养材料，请参考转染规模调整，所有数量和体积均是按每孔计算。

(1) 转染前一日，将细胞接种于 500 μL 不含抗生素的培养基中，使其在转染时长至 30~50% 汇合度。

(2) 转染液制备，每孔细胞用量如下：

1) 用 50 μL Opti-MEM 低血清培养基（或者其他无血清基）稀释 20 pmol siRNA（转染时 siRNA 终浓度为 33 nM），轻轻混匀。

2) 使用前轻轻摇匀低毒型 Lipo7000 转染试剂，然后取 1 μL 低毒型 Lipo7000 转染试剂在 50 μL Opti-MEM 培养基中稀释，室温孵育 5 min。

注：请在 25 min 内进行下一步操作。

3) 将前两步所稀释的 RNA 和低毒型 Lipo7000 转染试剂混合（使总体积为 100 μL ），轻轻混匀，室温放置 20 min（溶液可出现浑浊）。

(3) 在每孔细胞中加入 100 μL 转染液，轻轻摇匀。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24~96 h 后检测基因表达，转染 4~6 h 后可更换培养基。

4.siRNA 转染优化

可调整 siRNA 与低毒型 Lipo7000 转染试剂的用量以优化转染，在 24 孔板，siRNA 可在 10~50 pmol 之间调整，低毒型 Lipo7000 转染试剂可在 0.5~1.5 μL 之间调整，在增加细胞密度时也应优化转染剂量。

5.转染规模调整

不同培养材料转染液、细胞和培养基的用量按照培养材料面积换算。在 96 孔板细胞高通量自动分析系统，推荐每孔使用 50 μL 转染液。

注：在 96 孔板，可将细胞直接接种于转染液中以实现快速转染，直接在培养板中配制转染液 100 μL ，直接将细胞加入培养板中，其密度为上述方法的 2 倍，细胞在转染液中可正常贴壁。

6.染色效果图（图 1）

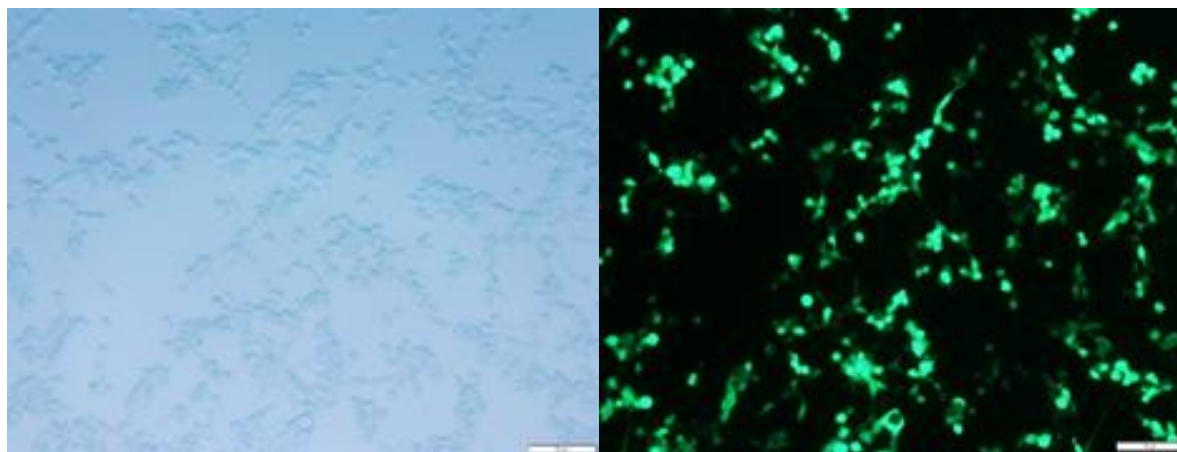


图 1 HEK 293 细胞转染效果，转染效率高达 90% 以上