

Lipofect 脂质体转染试剂

简介:

外源基因导入真核细胞的方法有很多种, 如磷酸钙转染法、DEAE-葡聚糖转染法、脂质体法、电穿孔法、显微注射法等。

BIOISCO Lipofect 脂质体转染试剂(Lipofect Transfection Reagent)是一种新型的阳离子脂质体转染试剂, 适用于把质粒、siRNA 或其它形式的核酸包括 DNA、RNA 寡核苷酸以及核酸蛋白复合物或带负电荷的蛋白转染到真核细胞中。

BIOISCO Lipofect 脂质体转染试剂对于常见的哺乳动物细胞具有较高的转染效率, 较好的重复性, 且操作简以及单细胞毒性较小, 可用于贴壁细胞和悬浮细胞。Lipofect 脂质体转染试剂使用方法与 Lipofectamine[®] 2000 Reagent 极为相似。该转染试剂转染细胞时, 基本不受细胞培养液中的血清和抗生素的影响, 即可以在血清和抗生素存在的情况下进行细胞转染。但为了取得最佳的转染效果, 推荐转染时使用不含抗生素的含血清的细胞培养液。

组成:

| 产品名称 | CD011-0.5ml | CD011-1ml | CD011-5×1ml | Storage |
|------------------|-------------|-----------|-------------|---------|
| Lipofect 脂质体转染试剂 | 0.5ml | 1ml | 5×1ml | 4°C |
| 说明书 | 一份 | | | |

保存条件:

4°C保存,12个月有效。

自备材料:

- 1、胰蛋白酶消化液
- 2、完全培养液和不完全培养液
- 3、PBS

操作步骤(仅供参考):

(一)DNA 转染:

1、(以 12 孔板为例)在转染前 18~24h 用胰蛋白酶消化培养细胞, 取适量对数期细胞转移至 12 孔板中, 并将细胞培养板置于 CO₂ 培养箱培养, 待细胞密度达到即可进行转染。后续操作步骤均按 12 子板计算, 如果转染器不同, 请按比例自行调节用量。

2、在加入待转染的 DNA 之前 2~4h, 加入不含抗生素的完全培养液, 置于 CO₂ 培养箱培养, 也可使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液, 但抗生素使某些细胞转染后出现一定的细胞毒性。



3、配制转染工作液:取两个无菌离心管, 分别加入不含抗生素和血清的培养液, 取其中一离心管加入 DNA, 轻轻混匀;取另一离心管加入 Lipofect 脂质体转染试剂, 轻轻混匀室温静置, 将含有 DNA 的培养液用微量移液器轻轻加入含 Lipofect 脂质体转染试剂的培养液中, 轻轻吹打混匀, 室温静置。

4、将上述转染工作液逐滴滴入对应细胞培养液中, 轻轻混匀后置于 CO₂ 培养箱中进行培养。

5、培养后, 更换为含有血清的完全培养液。对于 Hela 细胞, 推荐在转染 4h 更换培养液对于 NIH3T3、CHO、HEK293T 和 HEK293FT 细胞, 推荐在转染 6h 更换培养液。

6、继续培养 24~48h 后, 观察或收集细胞或加入适当的筛选药物如 G418 等进行稳定细胞株的筛选。

不同细胞器皿转染时培养液、DNA、Lipofect 脂质体转染试剂用量表

| | 96-well | 24-well | 12-well | 6-well | 6cm dish | 10cm dish |
|------------------|---------|---------|---------|--------|----------|-----------|
| 铺板培养液 | 0.15ml | 0.5ml | 1ml | 2ml | 5ml | 10ml |
| 无血清培养液 | 15μl | 25μl | 50μl | 100μl | 200μl | 500μl |
| DNA | 0.2μg | 0.8μg | 1.6μg | 4μg | 8μg | 24μg |
| 无血清培养液 | 15μl | 25μl | 50μl | 100μl | 200μl | 500μl |
| Lipofect 脂质体转染试剂 | 0.5μl | 2μl | 4μl | 10μl | 20μl | 60μl |

注意:对于 12 孔板中一个孔的细胞, Lipofect 脂质体转染试剂的用量可以在 3~10μl 范围内进行适当调节, DNA 用量建议在 1.6μg, 但也可在 1~4μg 范围内进行适当调节。通常 DNA 用量(μg)和 Lipofect 脂质体转染试剂(μl)用量比例为 1:2~3, 如有必要可在 1:0.5~5 的范围内优化转染效果。为了获得最佳的转染效果, 不同的细胞类型和培养条件有所不同可在上述推荐范围内自行优化转染条件。

(二) siRNA 转染:

1、(以 12 孔板为例)在转染前 18~24h 用胰蛋白酶消化培养细胞, 取适量对数期细胞转移至 12 孔板中, 并将细胞培养板置于 CO₂ 培养箱培养, 待细胞密度达到即可进行转染。后续操作步骤均按 12 孔板计算, 如果转染器用不同, 请按比例自行调节用量。

2、在加入待转染的 siRNA 之前 2~4h, 加入不含抗生素的完全培养液, 置于 CO₂ 培养箱培养。也可使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液, 但抗生素使某些细胞转染后出现一定的细胞毒性。

3、配制转染工作液:取两个无菌离心管, 分别加入 5 不含抗生素和血清的培养液, 取其中一离心管加入 siRNA, 轻轻混匀;取另一离心管加入 Lipofect 脂质体转染试剂, 轻轻混匀。室温静置, 将含有 siRNA 的培养液用微量移液器轻轻加入含 Lipofect 脂质体转染试剂的培养液中, 轻轻吹打混匀, 室温静置。

4 将上述转染工作液逐滴滴入对应细胞培养液中, 轻轻混匀后置于 CO₂ 培养箱中进行培养。

5、培养 4~6h 后, 更换为含有血清的完全培养液。对于 Hela 细胞, 推荐在转染 4h 更换培养液;对于 NIH3T3、CHO、HEK293T 和 HEK293FT 细胞, 推荐在转染 6h 更换培养液。

6、继续培养后, 观察或收集细胞。

不同细胞器皿转染时培养液、siRNA、Lipofect 脂质体转染试剂用量表

| | 96-well | 24-well | 12-well | 6-well | 6cm dish | 10cm dish |
|------------------|---------|---------|---------|---------|----------|-----------|
| 铺板培养液 | 0.15ml | 0.5ml | 1ml | 2ml | 5ml | 10ml |
| 无血清培养液 | 15μl | 25μl | 50μl | 100μl | 200μl | 500μl |
| siRNA | 5pmol | 20pmol | 40pmol | 100pmol | 200pmol | 600pmol |
| 无血清培养液 | 15μl | 25μl | 50μl | 100μl | 200μl | 500μl |
| Lipofect 脂质体转染试剂 | 0.25pl | 1μl | 2μl | 5μl | 10μl | 30μl |

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



注意:对于 12 孔板中一个孔的细胞, Lipofect 脂质体转染试剂的用量可以在 1~4 μ l 范围内进行适当调节, siRNA 用量建议在范围内进行适当调节, 通常 siRNA 用量(μ mol)和 Lipofect 脂质体转染试剂(μ l)的用量比例适量, 如有必要可在 10~40:1 范围内优化转染效果, 为了获得最佳的转染效果, 不同的细胞类型和培养条件有所不同, 可以在上述推荐范围内自行优化转染条件。siRNA 的推荐浓度, 常用的浓度范围为。对于多个孔转染相同数量相同质粒的情况可以把每个孔所需的 Lipofect 脂质体转染试剂和 siRNA 混合物分别配制, 然后一起混合在同一个离心管内, 后续混匀并孵育后按照推荐用量滴加到细胞培养器皿内。对于其它培养板或培养器皿, 各种试剂的用量可以按照细胞培养器皿的培养面积按比例进行换算。如果转染寡核苷酸或 RNA 等可以参考转染 DNA 的条件进行。

注意事项:

- 1、注意无菌操作, 尽量避免污染,
- 2、使用高纯度 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率, 同时 DNA 不应含有蛋白和酚
- 3、影响转染效率的因素有很多, 如细胞类型、细胞状态及密度、DNA/siRNA 转染量、转染试剂与 DNA/siRNA 比例等, 应该在具体实践中优化来确定最佳转染条件。
- 4、为了取得较高的转染效率, 推荐使用在 50 代以内的细胞进行转染, 转染前细胞必须处于良好的生长状态。
- 5、为了取得较高的转染效率, 推荐使用高纯度的质粒, $OD_{260}/OD_{280} \geq 1.8$ 。
- 6、Lipofect 脂质体转染试剂不应 Vortex 或离心, 宜缓慢晃动混匀。
- 7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8、本产品仅由于科研, 严禁他用。

