

Lipo3K Transfection Reagent

产品描述

Lipo3K转染试剂(Lipo3K Transfection Reagent)是一种广泛应用于细胞转染的阳离子脂质体转染试剂,可以将DNA或RNA(如siRNA/mRNA)转染进各种类型的细胞(贴壁或悬浮)中,包括一些难以转染的细胞。本转染试剂的使用方法与常用的Lipofectamine® 3000 Reagent基本一致,并且经过测试,本转染试剂的转染效率与Lipofectamine® 3000 Reagent相当。

相比于另一种常用的脂质体转染试剂Lipo2K,本转染试剂的转染效率更高且细胞毒性更低。相比于Lipo2K,本转染试剂可以将转染效率提高2-10倍,所以本试剂非常适合用于难转染的细胞。同时因为细胞毒性更低,本试剂转染后无需进行换液,可以在转染24-48 h后直接收集细胞进行检测,操作更加简单方便。此外,本试剂盒中还提供一种转染增强试剂(Lipo3K-A Reagent),可以帮助质粒DNA入核从而大大增加转染效率。如转染siRNA,则不需要使用转染增强试剂。本转染试剂不仅适合用于单一质粒或siRNA的转染,也适用于多个质粒或者质粒与siRNA的组合转染。本转染试剂转染质粒后,一般24-48 h后可进行表达检测;转染siRNA后通常3-5天后进行检测会比较理想。

本转染试剂转染细胞时,血清或抗生索的存在基本不影响转染效率。但是为了实现最佳的转染效果,推荐转染时使用不含抗生索的含血清的培养基。

组分和储存条件

Components	K2705-0.75 mL	K2705-1.5 mL
Lipo3K-A Reagent	0.75 mL	1.5 mL
Lipo3K-B Reagent	0.75 mL	1.5 mL

Store the kit at 4°C, stable for 1 year. Do not freeze.

实验操作

本实验操作以24孔板为例,其他孔板转染各组分用量请参考附表一。

1. 细胞培养:

- 1) 贴壁细胞:转染前一天,每孔用500 μ L不含抗生索的培养基接种1-2 \times 10⁵个细胞,使得第二天转染时细胞汇合度达到70-80%。
- 2) 悬浮细胞:转染当天,配制DNA复合物之前,每孔用500 μ L不含抗生索的培养基接种5-10 \times 10⁵个细胞。

2. 转染前准备:

- 1) DNA复合物配制：对于每孔，将0.5 μg DNA稀释于25 μL无血清培养基（如Opti-MEM）中并轻轻混匀，随后往混匀的DNA中加入1 μL Lipo3K-A Reagent，再次轻轻混匀即为DNA复合物。

***Note:** 本步骤仅针对 DNA 转染，如转染 siRNA 或 mRNA，则不需要加入 Lipo3K-A Reagent。

- 2) Lipo3K稀释液配制：对于每孔，将1.5 μL Lipo3K-B Reagent稀释于25 μL无血清培养基（如Opti-MEM）中并轻轻混匀，即为Lipo3K-B稀释液。室温静置5 min。

***Note:** Lipo3K-B Reagent 用前需要先混匀，可以缓慢晃动以混匀，不可以直接涡旋。

- 3) DNA-Lipo3K复合物制备：将DNA复合物和Lipo3K-B稀释液混合，轻轻混匀，室温静置20 min，即为DNA-Lipo3K复合物。该复合物可在室温下稳定存在6 h。

3. 细胞转染：将DNA-Lipo3K复合物加到准备好的细胞中，轻轻摇动孔板使复合物分散均匀。细胞培养箱中培养24-48 h。如果转染后需要更换新鲜培养基，建议在加入转染复合物后4-6 h更换。

4. 检测：培养24-48 h后，即可用适当方式检测转染效果，如荧光检测、Western Blot、RT-qPCR、ELISA和报告基因等实验。或者加入合适的筛选抗生素（如G418）进行稳转株的筛选。

5. 附表一：下表为推荐的不同细胞孔板转染实验时各组分的用量。

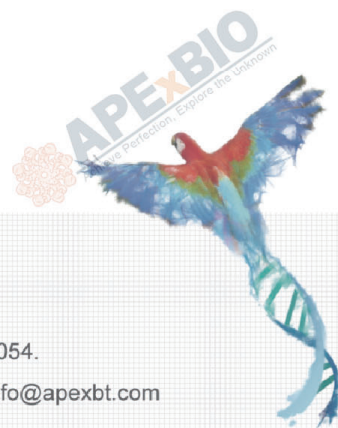
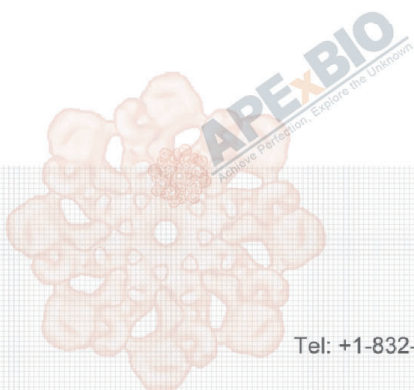
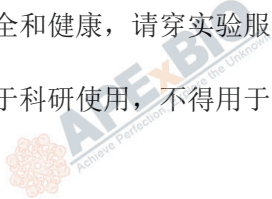
培养容器	培养基		DNA 转染			siRNA 转染	
	铺板培养基体积	稀释培养基体积	DNA	Lipo3K-A	Lipo3K-B	siRNA	Lipo3K-B
96 孔板	100 μL	2x5 μL	0.1 μg	0.2 μL	0.3 μL	3.0 pmol	0.3 μL
48 孔板	250 μL	2x12.5 μL	0.25 μg	0.5 μL	0.75 μL	7.5 pmol	0.75 μL
24 孔板	500 μL	2x25 μL	0.5 μg	1 μL	1.5 μL	15 pmol	1.5 μL
12 孔板	1 mL	2x50 μL	1.0 μg	2 μL	3 μL	30 pmol	3.0 μL
6 孔板	2 mL	2x125 μL	2.5 μg	5 μL	7.5 μL	75 pmol	7.5 μL
6 cm 板	5 mL	2x250 μL	5.5-11 μg	11-22 μL	16.5 μL	166 pmol	17 μL
10 cm 板	10 mL	2x500 μL	14-28 μg	28-56 μL	43 μL	434 pmol	43 μL

***Note:** 本表使用量仅供参考，具体使用量可以根据细胞类型进行优化。

■ 注意事项

1. 细胞的种类和状态对于转染效率影响非常大。一般推荐使用处于对数生长期且生长状态良好的细胞进行转染。对于贴壁细胞，需要保证在贴壁后12-24 h再进行转染，否则细胞很容易脱壁。对于悬浮细胞，建议最好在转染前4 h换一次液。
2. 转染质粒的大小、质量和用量对转染效率也非常关键。高纯度的质粒可以获得较高的转染效率。质粒应该无蛋白质、RNA和其他化学物质的污染，其OD_{260/280}的值应在1.8-1.9范围内。
3. 转染时转染试剂的用量也需要注意，过量的话也可能因为细胞毒性过大而使得转染效率降低。
4. 本转染试剂可用于有血清培养基的转染，但是制备DNA-Lipo3K复合物的时候需要使用无血清培养基稀释DNA和Lipo3K，这是因为血清会影响复合物的形成。
5. 本转染试剂使用后需要立刻盖好盖子，因为长时间暴露在空气中会造成脂质体的氧化，影响转染效率。

6. 本转染试剂不可冷冻、涡旋或离心，同时使用前需要缓慢晃动以混匀。
7. 转染的时候推荐不要使用抗生素。
8. 一般转染24-48 h后，目的基因可在细胞内表达，此时可选用不同实验检测目的基因的表达。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
10. 本产品仅限于科研使用，不得用于临床诊断或治疗。



APEX BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com