



Lipofect Transfection Reagent

转染试剂

简介：本产品为阳离子脂质体转染试剂，适用于将核酸转入真核细胞中。

产品包装：本产品为液体，浓度为 1 mg/ml。

Catalog#	GT3211-00	GT3211-01	GT3211-02
VOLUME	20 uL	1.5 mL	6*1.0 mL

保存：

自生产之日起，4℃保存，不可冷冻，可保存一年。

特点：

1. 对大多数细胞都可高效转染。尤其对常用于蛋白表达的细胞系非常适合（如 COS-7，CHO 和 293），效率可超过 90%。
2. 无论培养基中是否含有血清，DNA- Lipofect 复合物都可直接加入。
3. 转染后不需再去除复合物或更换、添加培养基。

注意事项：

1. 准备复合物时，DNA(ug)与 Lipofect (uL) 的比例可以从 1:0.5 到 1:5。对大多数细胞，推荐用量为 1:2 到 1:3。
2. 应在细胞密度高时转染。用于转染的最佳细胞密度根据不同的细胞类型或应用而异。一般贴壁细胞密度应为 70%-90%，悬浮细胞密度应为 $2 \times 10^6 - 4 \times 10^6$ 细胞/mL 时效果较好。因为转染效率对细胞密度很敏感，所以在不同实验间应保持一个基本的传代步骤，且应确保转染时细胞没有长满或处于静止期。
3. 转染时不要在培养基中加入抗生素，否则会导致细胞死亡。
4. 某些无血清培养基会抑制阳离子脂质体介导的转染，所以应事先检测。现已知 CD293、293SFM II、VP-SFM 培养基对转染有影响。

转染步骤：

使用下列方法转染 24 孔板培养的哺乳细胞。如需使用其它培养板，应根据转染规模调整转染试剂的用量。

1. 贴壁细胞：转染前一天，胰酶消化细胞并计数，取 $0.5 - 2 \times 10^5$ 细胞铺板在 0.5mL 含血清，不含抗生素的正常生长的培养基中，使其在转染时密度为 90-95%。

悬浮细胞：转染时，准备 DNA-脂质体复合物前，取 $4-8 \times 10^5$ 细胞铺板在 0.5 mL 含血清，不含抗生素的正常生长的培养基中。

2. 对于每孔细胞，使用 50uL 无血清培养基（如 OPTI-MEM I 培养基）稀释 0.8ug-1.0ug DNA。多孔操作可以批量制备。
3. 对于每孔细胞，使用 50uL 无血清培养基（如 OPTI-MEM I）稀释 1uL-3uL Lipofect 试剂，温和混匀，室温放置 5 分钟。

注意：Lipofect 稀释后，在 30 分钟内同稀释的 DNA 混合。保温时间过长会降低活性。可以批量制备。

注意：即使 Lipofect 使用 OPTI-MEM I 稀释，细胞也可以使用 D-MEM 培养。如果 D-MEM 做为 Lipofect 的稀释液，则应在 5 分钟内同稀释的 DNA 混合。

4. 将稀释的 DNA 和稀释的 Lipofect 混合在一起（总体积为 100uL）。在室温保温 20 分钟。溶液可能会变混浊，但不会影响转染。

注意：DNA-Lipofect 复合物在室温条件下 6 小时内可保持稳定。

5. 直接将 100μl 复合物加入到每孔中，摇动培养板，轻轻混匀。

注意：如果在无血清条件下转染，使用含血清的正常生长培养基进行细胞铺板。在加入复合物前移去生长培养基，替换为 0.5mL 无血清培养基。

6. 在 CO₂ 培养箱中 37°C 保温 24-48 小时，无须去掉复合物或更换培养基（在 4-5 小时后更换生长培养基也不会降低转染活性）。

7. 在细胞中加入复合物 24-72 小时后，分析细胞抽提物或进行原位细胞染色，检测报告基因活性。这依赖于细胞类型和启动子活性。对稳定表达细胞系，在开始转染一天后将细胞按 1:10 或更高的稀释比例传代至新鲜培养基中，再培养一天后加入筛选抗生素。进行稳定表达需要数天或数周。

对悬浮细胞：在细胞中加入复合物 4 小时后加入 PMA 和/或 PHA（如果需要）。

对 Jurkat 细胞：分别加 PHA-L 和 PMA 至终浓度为 1ug/mL 和 50ng/mL，可增强 CMV 启动子活性和基因表达。

对 K562 细胞：只加入 PMA 即可增强启动子的活性。

扩大或降低转染规模

转染不同培养形式的细胞，可根据不同表面积改变 Lipofect, DNA, 细胞, 培养基的比例。

培养板	每孔表面积	相对表面积 (对比 24 孔板)	铺板用培养基 基体积	DNA (ug) 和稀释体积 (uL 或 mL)	Lipofect (uL) 和稀释体积 (uL 或 mL)
96 孔	0.3	0.2	100uL	0.2ug 至 25uL	0.5uL 至 25uL
24 孔	2	1	500uL	0.8ug 至 50uL	2.0uL 至 50uL
12 孔	4	2	1ml	1.6ug 至 100uL	4.0uL 至 100uL
35mm	10	5	2ml	4.0ug 至 250uL	10uL 至 250uL
6 孔	10	5	2ml	4.0ug 至 250uL	10uL 至 250uL
60mm	20	10	5ml	8.0ug 至 0.5ml	20uL 至 0.5ml
10cm	60	30	15ml	24ug 至 1.5ml	60uL 至 1.5ml

对于 96 孔板培养，不再需要提前一天进行细胞铺板，而可以直接在平板中制备复合物，然后将细胞悬浮液加入到复合物就可以了，这样进一步减少了转染时间，但同传统方法相比活性稍低。

优化条件

为得到更高的转染效率，应优化转染条件。改变 DNA 和 Lipofect 的浓度，细胞密度。还可以从 1:0.5 到 1:5 改变 DNA(ug)和 Lipofect 的比例。

购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站



全国服务热线: [400-115-2855](tel:400-115-2855)

技术邮箱: tech@beiwobiomedical.com

市场邮箱: market@beiwobiomedical.com

倍沃官网: www.beiwobiomedical.com