

Lipofect 脂质体转染试剂说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

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。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。

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。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
Lipofect 脂质体转染试剂	0.5ml/1ml/5×1 ml	RT	1 份	1 年

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 37° C，5% CO₂ 培养箱培养，待细胞密度达到 70~90%即可进行转染。后续操作步骤均按 12 孔板计算，如果转染器皿不同，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 1ml 不含抗生素的完全培养液，置于 37°C，5% 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 50 μ l 不含抗生素和血清的培养液，取其中一离心管加入 1.6~3 μ g DNA，轻轻混匀；取另一离心管加入 4 μ l Lipofect 脂质体转染试剂，轻轻混匀。室温静置 5min，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 20min。

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 37 $^{\circ}$ C，5% 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 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	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
DNA	0.2 μ g	0.8 μ g	1.6 μ g	4 μ g	8 μ g	24 μ g
无血清培养液	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
Lipofect 脂质体转染试剂	0.5 μ l	2 μ l	4 μ l	10 μ l	20 μ l	60 μ l

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 3~10 μ l 范围内进行适当调节，DNA 用量建议在 1.6 μ g，但也可在 1~4 μ g 范围内进行适当调节。通常 DNA 用量(μ g)和 Lipofect 脂质体转染试剂(μ l)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 37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 培养箱培养，待细胞密度达到 50~80%即可进行转染。后续操作步骤均按 12 孔板计算，如果转染器皿不同，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 1ml 不含抗生素的完全培养液，置于 37 $^{\circ}$ C，5% 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 50 μ l 不含抗生素和血清的培养液，取其中一离心管加入 40pmol siRNA，轻轻混匀；取另一离心管加入 2 μ l Lipofect 脂质体转染试剂，轻轻混匀。室温静置 5min，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 20min。

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 37 $^{\circ}$ C，5% 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 24~48h 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	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
siRNA	5pmol	20pmol	40pmol	100pmol	200pmol	600pmol
无血清培养液	15 μ l	25 μ l	50 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l
PolyLea 非脂质体转染试剂	0.25 μ l	1 μ l	2 μ l	5 μ l	10 μ l	30 μ l

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 20~80pmol 范围内进行适当调节。通常 siRNA 用量(pmol)和 Lipofect 脂质体转染试剂(μ l)的用量比例 20:1，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 的推荐浓度为 20 μ M，常用的浓度范围为 10~50 μ M。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 20min 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，OD260/OD280 $\geq$ 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。

相关产品：

改良 SBF 模拟体液(无菌)
改良台氏液(无钙)
改良台氏液粉剂(无钙)
改良台氏液粉剂
新建文本文档.bat
生理盐水(10×NS, 无菌)