



# Lipo3000 Transfection Reagent

Lipo3000 转染试剂

## 产品组成:

名称	TG111-01
Lipo3000 -A Reagent	1.5ml
Lipo3000 -B Reagent	1.5ml

**保存条件:** 2-4℃保存一年。（避免冷冻）

## 产品简介:

Lipo3000 采用了先进的脂质纳米颗粒技术，可实现绝佳转染性能和可重复性的结果。其可针对最广泛类型的常见及难转染细胞，实现超高转染效率，同时提供更高的细胞活力。Lipo3000 结合先进的脂质纳米颗粒技术，性质温和，毒性低，可优化整个转染过程，实现绝佳的转染性能的同时降低所需的试剂量。对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率。转染时血清的存在不影响转染效率。

适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

## 产品优势:

- 1: 卓越的转染效率，针对最广泛类型的难转染细胞，可将效率提升 3-10 倍。
- 2: 作用温和，细胞毒性低，可改善细胞活力。
- 3: 高性价比，提高效率的同时降低所需试剂量。

## 操作方法:

建议转染之前进行预实验，确定最佳条件。

以 96 孔板为例，操作步骤如下：

1. 接种细胞至 70-90%汇合度时转染。
2. 取两个无菌离心管，分别标记为 1 号和 2 号。向每个管中加入 5  $\mu$ L opti-MEM 培养基，随后分别加入 0.15  $\mu$ L（1 号管）和 0.3  $\mu$ L（2 号管）的 Lipo3000-B 试剂。盖好管盖，轻弹管底混匀，备用。
3. 另取一管标记为 3 号，依次加入 10  $\mu$ L opti-MEM 培养基、0.2  $\mu$ g 质粒 DNA（依据质粒浓度计算加入的液体量）及 0.4  $\mu$ L Lipo3000-A 试剂。盖好管盖，轻弹管底混匀，备用。
4. 从 3 号管中分别取 5  $\mu$ L 混合液，依次加入到 1 号管和 2 号管中，每管 5  $\mu$ L。盖好管盖，轻弹管底混匀，备用。
5. 室温静置孵育 5-15 分钟。
6. 将孵育后的转染混合物加入细胞中，37℃孵育培养。一般在转染 24-48 小时，靶基因即在细胞内表达。

**注意：**若需转染 siRNA，可遵循相同的 DNA 转染流程，唯一区别在于：稀释 siRNA 步骤中请勿添加 Lipo3000-A 试剂。

## 流程如下表:

细胞培养板		96-well/孔	24-well/孔	6-well/孔
1. 细胞汇合度		1-4 $\times 10^4$	0.5-2 $\times 10^5$	0.25-1 $\times 10^6$
2. Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3000-B 试剂（建议用 2 管）	Opti-MEM 培养基	5 $\mu$ L $\times 2$	25 $\mu$ L $\times 2$	125 $\mu$ L $\times 2$
	Lipo3000-B	0.15 $\mu$ L 和 0.3 $\mu$ L	0.75 $\mu$ L 和 1.5 $\mu$ L	3.75 $\mu$ L 和 7.5 $\mu$ L
3. Opti-MEM 培养基稀释 DNA，制备 DNA 预混液，然后添加 Lipo3000-A 试剂，充分混匀。	Opti-MEM 培养基	10 $\mu$ L	50 $\mu$ L	250 $\mu$ L
	DNA(0.5-5 $\mu$ g/ $\mu$ L)	0.2 $\mu$ g	1 $\mu$ g	5 $\mu$ g
	Lipo3000-A(2 $\mu$ L/ $\mu$ g DNA)	0.4 $\mu$ L	2 $\mu$ L	10 $\mu$ L
4. Lipo3000-B 试剂中加入以上稀释的 DNA/Lipo3000-A 试剂（1: 1 比例混合）。	稀释 Lipo3000-B 试剂	5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	125 $\mu$ L
	稀释 DNA/Lipo3000-A 试剂	5 $\mu$ L	25 $\mu$ L	125 $\mu$ L
5. 室温孵育 5-15 分钟。				
6. 将混合液加入细胞中。		96-well/孔	24-well/孔	6-well/孔
	DNA-脂质体复合物/孔	10 $\mu$ L	50 $\mu$ L	250 $\mu$ L
7. 37℃孵育培养。一般在转染 24-48 小时，靶基因即在细胞内表达。（转染作用 6 小时后更换含血清的培养基。）				



使用下表扩大或减少转染实验的体积。最常见的规格系数如下表所示。

培养容器	共用试剂		DNA 转染			siRNA 转染	
	培养基体积	合物中的 Opti-MEM 体积	DNA ( $\mu\text{g}$ )	Lipo3000-A 试剂 ( $\mu\text{L}$ )	Lipo3000-B 试剂 ( $\mu\text{L}$ )	siRNA (pmol)	Lipo3000-B 试剂 ( $\mu\text{L}$ )
96 孔	100 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 5 $\mu\text{L}$	0.1	0.2	0.15, 0.3	3	0.3
48 孔	250 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 12.5 $\mu\text{L}$	0.25	0.5	0.37, 0.75	7.5	0.75
24 孔	500 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 25 $\mu\text{L}$	0.5	1	0.75, 1.5	15	1.5
12 孔	1 mL	2 $\times$ 50 $\mu\text{L}$	1	2	1.5, 3	30	3
6 孔	2 mL	2 $\times$ 125 $\mu\text{L}$	2.5	5	3.75, 7.5	75	7.5

常见细胞的转染效率（仅供参考）

细胞类型	HEK293	HCT116	WRL-68	HepG2	NIH/3T3	THP-1	Hela	MCF-7	293T	TS	HO 1980	A549	293F	CHO-S
转染效率	>90%	>80%	~80%	~80%	~80%	>70%	>80%	>80%	>90%	>70%	>70%	>80%	>90%	>90%
细胞类型	MEF	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929	BE(2)C	CHO
转染效率	>60%	>60%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%	>80%	>90%

细胞转染注意事项：

1. 转染时建议设置阳性对照和阴性对照。DNA 阳性对照可以用含有荧光基因的空载体，siRNA 可以用带荧光标记的 siRNA。
2. 转染试剂对个别细胞可能有一定毒性，在转染过程中由于提高了细胞通透性因此不能在培养基中添加抗生素。
3. 细胞的种类和状态影响转染效率，因此转染时细胞须处于良好的生长状态。
4. 如果是贴壁细胞，应保证贴壁在 12-24 小时进行转染，否则细胞容易脱壁。对于贴壁生长细胞，一般要求在转染前一日，必须应用胰酶处理成单细胞悬液，重新接种于培养皿或瓶，转染当日的细胞密度以 70-90%（贴壁细胞）或  $2-4 \times 10^6/\text{ml}$  为宜，最好在转染前 4 小时换一次新鲜培养液。
5. 质粒的大小，质量和用量对转染效率很关键。过量的转染试剂会对细胞造成很大毒性。
6. 转染作用 6 小时一定要换成含血清的培养基。
7. 培养基中的血清：开始准备 DNA 和转染试剂稀释液时要使用无血清的培养基，因为血清会影响复合物的形成。其实，只要在 DNA-转染试剂复合物形成时不含血清，在转染过程中是可以使用血清的。
8. 培养基中的抗生素：抗生素是影响转染的培养基添加物。这些抗生素一般对于真核细胞无毒，但阳离子脂质体试剂增加了细胞的通透性，使抗生素可以进入细胞，这会降低细胞活性，导致转染效率降低。
9. 一般在转染 24-48 小时，靶基因即在细胞内表达。根据不同实验目的，24-48 小时后即可进行靶基因表达的检测实验。
10. 如若建立稳定的细胞系，则可对靶细胞进行筛选，根据不同基因载体中所含有的抗性标记选用相应的药物。常用的真核表达载体筛选标记有潮霉素和新霉素等。

20251204