

低毒高效转染试剂

Low-toxicity and Highly Efficient Transfection Reagent

本产品需冰袋运输；保存于-20°C，保质期12个月。建议分装保存，若短期使用，可保存于2~8°C，5个月有效；若需长期保存，可置于-80°C，24个月有效。

货号规格

货号	规格
LP3000S	0.5 mL
LP3000	1.5 mL
LP3000L	1.5 mL×5

产品简介

本产品是一款低毒多功能高效转染试剂，同时适用于DNA、RNA及共转染应用，并且兼容血清和抗生素，有利于维持细胞的最佳状态。

本产品适用范围：大多数常规细胞、难转染细胞、原核细胞及干细胞的转染。

产品特点

- 性能卓越** — 经30余种细胞测试，包括常见细胞及难转染细胞，均可高效转染DNA和RNA；
- 作用温和** — 毒性低，且不受血清和抗生素影响，无需更换细胞培养液，特别适用于敏感细胞；
- 操作简便** — 转染试剂无需稀释，直接向稀释后的核酸中加入孵育即可；
- 通用性强** — 同时适用于DNA、RNA及共转染应用。

注意事项

1. 细胞生长状态是影响转染效率的关键！请务必选择传代次数相对较少，且生长状态良好的细胞进行转染实验；
2. 细胞培养基pH值偏低（颜色偏黄），会显著降低转染效率；若此时不便完全换液，可选择半数换液法：即弃去一半上清，补加新鲜完全培养基；
3. 初次实验时，建议先在96孔板内摸索确定好最佳核酸/转染试剂比例，再于大体系中开展实验；
4. 本产品的推荐用量：
 - ① **DNA或mRNA**: DNA或mRNA/转染试剂 = 1:4(μg/μL)，但转染试剂使用量受细胞类型及其它实验因素影响，建议初次使用时可固定核酸用量（如：96孔板，推荐100 ng），在DNA或mRNA/转染试剂 = 1:0.5~1:7(μg/μL)的范围内，设置转染试剂用量梯度，以筛选出最佳转用量；
 - ② **siRNA**: 在正式实验前，建议转染荧光标记的siRNA，通过流式或荧光显微镜考察细胞的siRNA摄取量，来确定合适的转染试剂/siRNA比例以及siRNA用量。
5. DNA或mRNA的初始储备浓度宜控制在0.5~5 μg/μL范围内；
siRNA的推荐浓度为15 μM，但仍需根据目标靶点的敲减难易程度，在10~50 μM范围内进行微调；调整时，转染试剂与siRNA的用量比例尽量保持不变。

6. 个别细胞(如 HeLa、A549、THP-1、CHO-K1、HEK 293T 等)比较敏感,会因单位细胞 DNA 或 siRNA 摄入量过高而产生毒性(非转染试剂原因)。

- 解决方案: ① 可通过降低 DNA 或 siRNA 使用量,或提高细胞密度,或在转染 6 h 后换液等操作,来降低细胞 DNA 或 siRNA 摄入量以降低单位毒性; 同时,选择在转染后 12~24 h 内检测细胞转染效果;
- ② 若方法①仍无法解决问题,建议更换新细胞,或检测细胞是否有支原体等微生物感染,并加以清除后再开展实验。

mRNA 转染无此问题;

7. 本产品为无菌包装,无需过滤,请注意无菌取用;

8. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作;

9. 本产品仅限科研使用。

使用说明

1. 培养细胞至其汇合度达60~80%;

注意: ① 请确认细胞在铺板前处于良好的生长状态;

② 若在同一天内进行细胞铺板和转染,转染前可无需进行换液操作; 若前一晚铺板,次日转染,需进行换液,可使用等体积新鲜培养基(含血清和抗生素的完全培养基)置换部分细胞原有上清。

2. 制备核酸稀释液: 参考表 1 或表 2, 使用减血清培养基(货号:CB018)稀释 DNA/mRNA 或 siRNA, 并用移液器轻轻吹打混匀;

注意: 减血清培养基可有效提高转染效率,也可用不含抗生素和血清的 DMEM 培养基替代(高糖 DMEM 或低糖 DMEM 均可)。

表 1. 不同细胞培养器皿中 DNA 或 mRNA 及转染试剂用量参考表(可酌情优化)

操作步骤		96-well	48-well	24-well	12-well	6-well	6 cm dish	10 cm dish
①	减血清培养基	5 μL	12.5 μL	25 μL	50 μL	125 μL	250 μL	500 μL
②	DNA或mRNA	0.1 μg	0.25 μg	0.5 μg	1 μg	2.5 μg	5 μg	15 μg
③	转染试剂	0.4 μL	1 μL	2 μL	4 μL	10 μL	20 μL	60 μL
加入DNA或mRNA后轻轻吹打混匀, 加入转染试剂后轻轻吹打混匀, 室温孵育10~15 min。								
④	每孔混合物加入量	5 μL	12.5 μL	25 μL	50 μL	125 μL	250 μL	500 μL
	按上述用量, 每孔均匀滴加转染试剂-核酸混合物, 放回培养箱直接继续培养, 通常无需换液。							

表 2. 不同细胞培养器皿中 siRNA 及转染试剂用量参考表(可酌情优化)

操作步骤		96-well	48-well	24-well	12-well	6-well	6 cm dish	10 cm dish
①	减血清培养基	5 μL	12.5 μL	25 μL	50 μL	125 μL	250 μL	500 μL
②	siRNA	3 pmol	7.5 pmol	15 pmol	30 pmol	75 pmol	150 pmol	450 pmol
③	转染试剂	0.2 μL	0.5 μL	1 μL	2 μL	5 μL	10 μL	30 μL
加入siRNA后轻轻吹打混匀, 加入转染试剂后轻轻吹打混匀, 室温孵育10~15 min。								
④	每孔混合物加入量	5 μL	12.5 μL	25 μL	50 μL	125 μL	250 μL	500 μL
	按上述用量, 每孔均匀滴加转染试剂-核酸混合物, 放回培养箱直接继续培养, 通常无需换液。							

3. 参考表 1 或表 2, 直接向核酸稀释液中加入相应计算量的低毒高效转染试剂, 用移液器轻轻吹打混匀, 室温静置孵育 10~15 min;

4. 将步骤 3 得到转染试剂 - 核酸混合物逐滴加至细胞上清, 轻摇混匀;

5. 继续培养约 12~48 h 后, 即可用适当方式检测转染效果, 如荧光检测、Western Blot、ELISA 或报告基因检测法等。