

低毒高效转染试剂

Low-cytotoxicity and High-efficiency 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，若短期内使用，可保存于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ ，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、原代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，无需更换细胞培养基，特别适用于敏感细胞；
- 操作简便** — 转染试剂无需稀释，直接加入到稀释后的核酸中孵育即可；
- 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. 转染所用核酸应为无内毒素级别，内毒素会对真核细胞产生显著毒性，影响细胞活力与实验结果；
3. 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；
4. 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；
5. 本产品的推荐用量：
 - ① **DNA 或 mRNA**：DNA 或 mRNA / 转染试剂 = 1:4 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)，但转染试剂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 ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) 的范围内，设置转染试剂用量梯度，以筛选出最佳转染用量；
 - 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 siRNA / 转染试剂比例以及 siRNA 用量。
6. DNA 或 mRNA 的初始储备浓度宜控制在 $0.5\sim 5 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ 范围内；siRNA 的推荐浓度为 $15 \mu\text{M}$ ，但仍需根据目标靶点的敲减难易程度，在 $10\sim 50 \mu\text{M}$ 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。



雅酶®

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途
技术支持：400-058-8030 info@epizyme.cn

7. 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;

8. 本产品为无菌包装,无需过滤,请注意无菌取用;
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 **Optimized MEM 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: Optimized MEM 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 μ L	12.5 μ L	25 μ L	50 μ L	125 μ L	250 μ L	500 μ L
② DNA或mRNA	0.1 μ g	0.25 μ g	0.5 μ g	1 μ g	2.5 μ g	5 μ g	15 μ g
③ 转染试剂	0.4 μ L	1 μ L	2 μ L	4 μ L	10 μ L	20 μ L	60 μ L
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 μ L	12.5 μ L	25 μ L	50 μ L	125 μ L	250 μ L	500 μ L
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 μ L	12.5 μ L	25 μ L	50 μ L	125 μ L	250 μ L	500 μ L
② siRNA	3 pmol	7.5 pmol	15 pmol	30 pmol	75 pmol	150 pmol	450 pmol
③ 转染试剂	0.2 μ L	0.5 μ L	1 μ L	2 μ L	5 μ L	10 μ L	30 μ L
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 μ L	12.5 μ L	25 μ L	50 μ L	125 μ L	250 μ L	500 μ L
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. 制备转染试剂-核酸混合物: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。

