



Analysis Quiz

Lipocat3000转染试剂

Lipocat3000 Transfection Reagent

#AQ11678-500ul

1.5ml

产品简介

阳离子脂质体是动物细胞导入外源性基因常用的工具试剂，但是由于阳离子脂质体电荷数相对恒定，结合核酸能力有限，在转染时通常出现电荷数不匹配的现象。本品为非阳离子脂质体，结合核酸所需的阳离子由其它试剂提供，在操作时增加了灵活性，电荷数可动态调整，增加了脂质体与核酸的结合比例，提高转染效率，且不增加细胞毒性。实验过程更加便利、高效。

产品组分

Lipocat3000 500 μ l / 1.5 ml

Cp3000 2 ml / 6 ml

储存条件

2-8℃保存，有效期2年。

使用说明

- 建议使用MEM Alpha培养基（AQ12571-500ml）稀释核酸和转染试剂。
- 由于抗生素可能导致转染时细胞死亡，在转染过程中培养物内不要加入抗生素。
- 某些培养基如CD293、SFM中有物质会降低转染效率，在正式实验前建议测试转染试剂与培养基是否兼容。

质粒DNA转染

以293T细胞12孔板培养为例，转染前保证细胞汇合度在75%以上。

1. 准备2个无菌1.5 ml离心管，分别加入100 μ l无血清培养基。然后其中一个离心管加入2 μ g质粒DNA和4 μ l lipocat3000；另一个离心管加入16 μ l Cp3000转染试剂。分别混匀后室温放置5分钟。

2. 将上述两个离心管中试剂混合，完全混匀，配制成转染试剂DNA混合物，室温放置10分钟。

3. 更换待转染细胞培养板中的细胞培养液，等待转染。

4. 将转染试剂DNA混合物加至上述已更换过细胞培养液的细胞培养孔板中，轻轻混匀后放置二氧化碳培养箱中培养。

可选步骤：4-6小时后可更换培养基以去除多余转染试剂。



siRNA转染

1. 在转染前一天使用1 ml完全培养基接种大约 1×10^5 个细胞至培养板的一个孔中。这样在转染时，细胞可达到30%-50%的汇合程度。

注意，培养基中不要含有抗生素。

2. 为每一个转染样品准备2个无菌管，其中一个加入100 μ l无血清培养基并稀释60 pmol siRNA，轻轻混匀。颠倒混匀lipocat3000，在另外一个管中加入100 μ l无血清培养基并稀释2 μ l lipocat3000，室温放置5分钟。

3. 将上述稀释的质粒与转染试剂混合，轻轻混匀，室温静置15分钟。

4. 将上述混合液加入细胞中，培养箱中培养。18-24小时后可检测转染基因表达情况。

可选步骤：4-6小时后可更换培养基以去除多余转染试剂。

注意：转染siRNA通常情况下不需Cp3000；如有转染效率不高可与lipocat3000按4: 1比例添加。

转染对照量表

培养器皿	表面积	试剂		质粒转染			siRNA转染	
		接种培养基	稀释用无血清培养基	质粒	Cp3000	Lipo-cat3000	siRNA	Lipo-cat3000
96 孔板	0.3 cm ²	100 μ l	2 \times 25 μ l	0.2 μ g	1.6 μ l	0.4 μ l	12 pmol	0.4 μ l
24 孔板	2 cm ²	500 μ l	2 \times 50 μ l	1 μ g	8 μ l	2 μ l	30 pmol	2 μ l
12 孔板	4 cm ²	1 ml	2 \times 100 μ l	2 μ g	16 μ l	4 μ l	60 pmol	4 μ l
6 孔板	10cm ²	2 ml	2 \times 250 μ l	4 μ g	32 μ l	8 μ l	120 pmol	8 μ l
60mm 皿	20 cm ²	5 ml	2 \times 500 μ l	8 μ g	64 μ l	16 μ l	240 pmol	16 μ l
10cm 皿	60cm ²	15 ml	2 \times 1.5 ml	24 μ g	192 μ l	48 μ l	720 pmol	48 μ l

优化转染效率

- 对于质粒DNA转染，保证细胞汇合度在90%以上，根据不同的细胞种类，质粒 (μ g) 与lipocat3000 (μ l) 混合比例可由1:1至1:10动态调整。Cp3000也可根据转染结果自由调整，调整比例由1:1至1:10。但无需与lipocat3000同步。通常单独调整Cp3000比例即可提高转染效率。

- 对于siRNA转染，siRNA (pmol) 与lipocat3000 (μ l) 比例可在20:1至20:5间动态调整。根据靶基因的特性，细胞密度也可适当提高。

- 对于96孔板转染，可在接种细胞同时进行转染，细胞在转染试剂存在情况下可正常贴壁。