

## 产品简介

脂质体转染是哺乳动物细胞较常用方法，然而对于某些肿瘤细胞，特别是实体瘤细胞转染效率通常不高，用量过大又可能导致细胞死亡过多。本产品针对肿瘤细胞特性进行了优化设计，在提高其转染效率同时不增加细胞毒性。操作方法与其它转染试剂类似，无需特殊材料。操作时间短，细胞无需更换无血清培养基。除了适用于肿瘤细胞，其它较难转染细胞或其它方法效果不佳者也可使用本品。

## 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HeLa细胞12孔板为例，质粒（ $\mu\text{g}$ ）与Lipocat2000C（ $\mu\text{l}$ ）按1:3到1:5的比例混合。细胞密度越高，转染效率越高。

- 在转染前一天使用1 ml完全培养基接种大约 $3 \times 10^5$ 个细胞至培养板的一个孔中。这样在转染时，细胞可达到90%-95%的汇合程度。

**注意：培养基中不要含有抗生素。**

- 预热Lipocat2000C至室温，为每一个转染样品准备2个无菌管，其中一个加入100  $\mu\text{l}$  无血清培养基和2  $\mu\text{g}$  质粒，轻轻混匀。将Lipocat2000C颠倒混匀，在另外一个无菌管中加入100  $\mu\text{l}$  无血清培养基和6  $\mu\text{l}$  Lipocat2000C



并混匀，室温放置5 min。

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

可选步骤：4-6 h 后可更换培养基以去除多余的转染试剂。

siRNA转染

1. 在转染前一天使用1 ml 完全培养基接种大约 $1\times10^5$ 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  $\mu$ l 无血清培养基和40 pmol siRNA，轻轻混匀。将Lipocat2000C 颠倒混匀，在另外一个管中加入100  $\mu$ l 无血清培养基和 2  $\mu$ l Lipocat2000C 并混匀，室温放置5 min。
3. 将上述稀释的siRNA与转染试剂混合，轻轻混匀，室温静置15 min。
4. 将上述混合液加入细胞中，培养箱中培养。4-6 h 后可更换培养基以去除多余的转染试剂。18-24 h 后可检测基因敲低情况。

可选步骤：4-6 h 后可更换培养基以去除多余的转染试剂。

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	Lipo-cat2000C	siRNA	Lipo-cat2000C
96 孔板	0.3 cm <sup>2</sup>	100 $\mu$ l	2 $\times$ 25 $\mu$ l	0.2 $\mu$ g	0.6 $\mu$ l	5 pmol	0.25 $\mu$ l
24 孔板	2 cm <sup>2</sup>	500 $\mu$ l	2 $\times$ 50 $\mu$ l	1 $\mu$ g	3 $\mu$ l	20 pmol	1 $\mu$ l
12 孔板	4 cm <sup>2</sup>	1 ml	2 $\times$ 100 $\mu$ l	2 $\mu$ g	6 $\mu$ l	40 pmol	2 $\mu$ l
6 孔板	10cm <sup>2</sup>	2 ml	2 $\times$ 250 $\mu$ l	4 $\mu$ g	12 $\mu$ l	100 pmol	5 $\mu$ l
60mm 皿	20 cm <sup>2</sup>	5 ml	2 $\times$ 500 $\mu$ l	8 $\mu$ g	24 $\mu$ l	200 pmol	10 $\mu$ l
10cm 皿	60cm <sup>2</sup>	15 ml	2 $\times$ 1.5 ml	24 $\mu$ g	72 $\mu$ l	600 pmol	30 $\mu$ l

### 优化转染效率

- a. 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（ $\mu\text{g}$ ）与Lipocat2000C（ $\mu\text{l}$ ）混合比例可由1:1至1:10动态调整。
- b. 对于siRNA转染，siRNA（ $\text{pmol}$ ）与lipocat2000C（ $\mu\text{l}$ ）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。
- c. 对于使用96孔板进行转染，可在接种细胞时，同时进行转染，细胞在转染试剂存在情况下可正常贴壁。

### 储存条件

2-8℃保存，有效期2年，切勿冷冻。

### 注意事项

1. 该产品仅限用于科学研究。
2. 培养基中不要含有抗生素。
3. 本产品为无菌产品，请注意保持无菌，使用时请在超净工作台内进行。
4. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴防护手套操作，避免直接接触。