

M5 SuperFast Next-Generation Lipo3000 Transfection Reagent

新一代超快 lipo3000 转染试剂

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 SuperFast Next-Generation Lipo3000 Transfection Reagent	0.25ml	MF2038-01
M5 SuperFast Next-Generation Lipo3000 Transfection Reagent	0.75ml	MF2038-02

【储存条件】 2~8°C 保存，无菌取用，有效期 24 个月。

【产品简介】

本产品是一种由脂质体介导的转染试剂，适用于多种贴壁或悬浮细胞的质粒 DNA、RNA 转染。本产品结构明确，可实现高效、高重复性的细胞转染，其中组分转染试剂增强剂可以辅助 DNA 快速入核，两者搭配使用对大片段质粒和难转染细胞具有较高的转染效率。本产品经过精心设计，使其兼具优异的脂质体/核酸复合物形成能力和转染到细胞内核酸的快速释放能力，保证了优异的转染性能和较低的细胞毒性。本产品具有以下三大特点： 1) 高效转染，可高效转染大片段质粒和难转染的细胞； 2) 兼容广泛，可用于质粒 DNA、mRNA、siRNA 等的转染； 3) 性质温和，对细胞作用温和，毒性低。

【产品组分】

	MF2038-01	MF2038-02
M5 SuperFast Next-Generation Lipo3000 Transfection Reagent（红色盖）	0.25 ml	0.75 ml
M5 SuperFast Next-Generation P-3000 Reagent（黄色盖）	0.25 ml	0.75 ml

【适用细胞系】

适用于绝大多数真核细胞： HCT116, Raw264.7, A549, Jurkat, HeLa, MDCK, NIH3T3, MDA-MB-231, Vero, H9C2, C2C12, COS7, Huh7 等。

【注意事项】

1. 因细胞密度随细胞系不同会有很大差别，且细胞密度直接决定转染效率。因此请在转染过程中尽量保持同样的接种比例，以提高实验重复性。
2. 多数哺乳动物细胞应在 37°C、5% CO₂ 条件下培养。其他的一些细胞系，例如昆虫细胞，需在不同的温度和 CO₂ 浓度下进行培养。请根据具体细胞系选择最适培养条件。
3. 制备转染复合物时要求用 opti-MEM（聚合美货号 MF988）稀释核酸和转染试剂，避免血清干扰 Lipo3000 /核酸形成复合物。
4. 细胞转染实验手法需轻柔，转染试剂与核酸稀释过程中使用移液器轻轻混匀或者手指轻弹离心管底部混匀，避免剧烈振荡。
5. 使用高纯度、无菌、无内毒素的 DNA 有助于获得更高的转染效率，推荐聚合美货号 MF985（“易高得”无内毒素质粒大提试剂盒）。
6. 注意 P-3000 Reagent 需滴加在已稀释 DNA 的 opti-MEM 溶液中，再将稀释后的 Lipo3000 和 DNA/ P-3000 Reagent 稀释液轻柔混匀以形成复合物。

【操作步骤】

以瞬时转染 24 孔板培养细胞为例

一、细胞接种

1. 转染前 24 h 左右对细胞进行传代，接种密度约为 $0.5 - 2 \times 10^5$ cells/well。
2. 在细胞汇合度达到 70% - 90% 时进行转染。

二、配制 lipo3000/P-3000/DNA 复合物

1. 在无菌离心管中加入 25 μ l opti-MEM，然后加入 1.5 μ l lipo3000 转染试剂，用移液器轻柔混匀。
2. 在无菌离心管中加入 25 μ l opti-MEM，然后加入 0.5 μ g DNA，用移液器轻柔混匀。再加入 1 μ l P-3000，轻柔混匀。
3. 将 DNA/P-3000/opti-MEM 滴加到 lipo3000/opti-MEM 中，用移液器轻柔混匀，室温静置 10 分钟后可用于后续转染。

三、转染

1. 将上述 lipo3000/P-3000/DNA 复合物直接滴加到细胞培养基中，轻轻晃动培养皿使其均匀分散。

特殊情况下，可在转染开始之前更换新鲜的含血清培养基，以防止转染后培养阶段细胞密度过大导致营养不足而死亡。

2. 过夜培养 24-48 小时。

如需在转染后更换新鲜培养基，请在加入 lipo3000/DNA 复合物 6~12 小时后再更换。

3. 24~72 小时后根据实验需要进行瞬时表达分析或稳定细胞系加压筛选。

【推荐用量表】

	可转染培养基 的体积 (ml)	opti-MEM (μ l)	DNA 转染			RNA 转染	
			lipo3000 (μ l)	P-3000 (μ l)	1 μ g/ μ l 的质粒 DNA (μ l)	lipo3000 (μ l)	siRNA (pmol)
96 孔板	0.1	2x5	0.3	0.2	0.1	0.3	3
24 孔板	0.5	2x25	1.5	1	0.5	1.5	15
6 孔板	2	2x125	7.5	5	2.5	7.5	75
6cm 板	5	2x250	17	17	10	17	166
10cm 板	10	2x500	43	43	25	43	434

注意：1、siRNA 相关实验遵循以上方案，但在稀释 siRNA 时无需加入 P-3000 组分。

2、mRNA 转染操作与用量与 DNA 转染一致，但在稀释 mRNA 时无需加入 P-3000 组分。

以上方案仅供参考，需根据细胞类型及其他实验条件进行优化。

【常见 FAQ】

Q1: Lipo3000 可以做多质粒共转吗?

A1: 可以。质粒的总投入量参考说明书推荐量添加, 各个质粒的投入量需要根据实验目的进行调整。

Q2: Lipo3000 可以兼容 siRNA 与质粒共转吗?

A2: 可以。质粒和 siRNA 的量可以参考说明书中的推荐量添加, P-3000 的量只需依据质粒的量添加。

Q3: 转染效率偏低

A3:

- 1、Lipo3000 与 DNA 的比例不合适, 首次实验需要设置梯度摸索合适比例;
- 2、Lipo3000 原液或/和 DNA 原液未经无血清培养基稀释直接混合;
- 3、加样顺序, 应将稀释后的 DNA 滴加至稀释后的 Lipo3000 中;
- 4、转染时细胞密度不合适, 细胞密度建议在 70%-90%;
- 5、DNA 质量偏低, 应使用高纯度、无菌、无内毒素的质粒 DNA;
- 6、细胞状态偏差 (细胞活力低、传代次数过多、复苏后未传代、有支原体污染等)。

Q4: 转染后细胞状态差

A4:

- 1、转染后细胞培养时间过长;
- 2、转染时细胞密度不合适;
- 3、Lipo3000/DNA 过量, 可以适当减少转染试剂的量;
- 4、转染复合物加入培养基时分布不均匀, 造成局部毒性大;
- 5、细胞状态本身偏差 (如支原体污染)。对于一些敏感细胞, 可以在转染前换液, 或转然后 6-12 h 更换新鲜培养基。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。