

# Witcel

## LipoMAX 3000 转染试剂

#T103

### 产品概述

LipoMAX 3000 转染试剂是一款多用途的脂质体转染试剂，能够与 DNA 或 RNA 形成脂质复合物，转染多种不同的贴壁或悬浮细胞。该产品具有更小的毒性，在一些难以转染的细胞和常规细胞上表现出更高的转染效率。

### 产品/组分信息

组分名称	T103-00	T103-01	T103-02
Transfection Reagent 3000-A	0.05 mL	0.75 mL	1.5 mL
Transfection Reagent 3000-B	0.05 mL	0.75 mL	1.5 mL

### 储存方式

2~8°C保存，不可冷冻。

### 使用说明

#### 以 24 孔板转染 DNA 为例的操作步骤

##### Day 1:

贴壁细胞：转染前一天，在 500  $\mu$ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板，铺板密度 0.5-2 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/mL，使得转染时的细胞汇合度达到 70%-90%；

##### Day 2:

注意：悬浮细胞的铺板是在当天制备转染复合物前，在 500  $\mu$ L 不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板，铺板密度4-8 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/mL。

1. 转染试剂稀释液制备：取1个干净的 1.5 mL 离心管，向 25 $\mu$ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 1 $\mu$ L Transfection Reagent 3000-A。轻柔混匀后室温孵育。
2. DNA 稀释液制备：取 1 个干净的 1.5 mL 离心管，向 25 $\mu$ L Opti-MEM™ I 培养基中加入 0.5  $\mu$ g DNA。随后加入 1 $\mu$ L Transfection Reagent 3000-B。轻柔混匀后室温孵育。
3. DNA-脂质体复合物制备：将稀释后的DNA/转染试剂混合物加入到稀释后的转染试剂中，轻柔混匀后室温放置 10-15 mins。
4. 将 DNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中，以十字交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养，为保证足够的营养，建议4-6 小时对细胞进行换液，随后继续培养至鉴定时间，一般需要 48-96 h。

**优化 DNA 转染：**为获得较高的转染效率和较低的细胞毒性，通过改变细胞密度以及 DNA 和Transfection Reagent 3000-A的浓度来优化转染条件。确保细胞汇合度大于90%，并在 DNA: Transfection Reagent 3000-A: Transfection Reagent 3000-B =1:1.2~1:4:2 的范围内进行调整。

## 以 24 孔板转染 siRNA 为例的操作步骤

### Day 1:

贴壁细胞: 转染前一天, 在 500  $\mu\text{L}$  不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 铺板密度  $0.5\text{--}2\times 10^5$  cells/mL, 使得转染时的细胞汇合度达到 60%–80%。注: 在更低密度时 进行转染可以让转染和检测之间的时间间隔更长, 并且使因细胞过量生长造成的细胞活力损失更小。

### Day 2:

注意: 悬浮细胞的铺板是在当天制备转染复合物前, 在 500  $\mu\text{L}$  不含抗生素的生长培养基中对细胞进行铺板, 铺板密度  $4\text{--}8\times 10^5$  cells/mL。

1. 将 siRNA 的储液用 DEPC 水稀释到 20  $\mu\text{M}$ ;
2. 转染试剂稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 $\mu\text{L}$  Opti-MEM™ I 培养基中加入 1  $\mu\text{L}$  Transfection Reagent 3000-A。轻柔混匀后室温孵育。
3. siRNA 稀释液制备: 取 1 个干净的 1.5 mL 离心管, 向 25 $\mu\text{L}$  Opti-MEM™ I 培养基中加入 1  $\mu\text{L}$  siRNA (20 $\mu\text{M}$ )。轻柔混匀后室温孵育。
4. siRNA-脂质体复合物制备: 将 siRNA 稀释液加入到稀释后的转染试剂中, 轻柔混匀后室温放置 10–15 mins。
5. 将 siRNA-脂质体复合物均匀滴加入细胞中, 以交叉的方式进行轻柔混匀。随后将细胞培养板放入培养箱中进行培养, 为保证足够的营养, 建议 4–6 小时后对细胞进行换液, 随后继续培养至鉴定时间, 一般需要 48–96 h。

**优化 siRNA 转染:** 为获得较高的转染效率和较低的细胞毒性, 通过改变细胞密度以及 siRNA 和 Transfection Reagent 3000-A 的浓度来优化转染条件。对于24孔板, 在 10–50 pmol siRNA 和 0.5–1.5  $\mu\text{L}$  Transfection Reagent 3000-A范围内优化转染条件。根据靶基因和靶细胞的性质, 在优化条件时也可考虑以更高密度转染细胞。

### 建议的试剂用量和体积:

培养规格	表面积 ( $\text{cm}^2$ )	培养基体积	稀释液体积	DNA 转染体系			siRNA 转染体系	
				DNA	Transfection Reagent 3000-A	Transfection Reagent 3000-B	siRNA	Transfection Reagent 3000-A
96-well	0.3	100 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 5 $\mu\text{L}$	0.1 $\mu\text{g}$	0.15~0.3 $\mu\text{L}$	0.2 $\mu\text{L}$	5 pmol	0.25 $\mu\text{L}$
24-well	2	500 $\mu\text{L}$	2 $\times$ 25 $\mu\text{L}$	0.5 $\mu\text{g}$	0.75~1.5 $\mu\text{L}$	1 $\mu\text{L}$	20 pmol	1 $\mu\text{L}$
12-well	4	1 mL	2 $\times$ 50 $\mu\text{L}$	1.0 $\mu\text{g}$	1.5~3.0 $\mu\text{L}$	2 $\mu\text{L}$	40 pmol	2 $\mu\text{L}$
6-well	10	2 mL	2 $\times$ 125 $\mu\text{L}$	2.5 $\mu\text{g}$	3.75~7.5 $\mu\text{L}$	5 $\mu\text{L}$	100 pmol	5 $\mu\text{L}$