



Lipo6000™通用型转染试剂

产品编号	产品名称	规格
RG-CE-14	Lipo6000™通用型转染试剂	0.5ml

产品简介

- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂是一种非常高效的新型转染试剂，达到了国际最主流转染试剂的转染效果。适用于把质粒、siRNA 或其它形式的核酸包括 DNA、RNA、寡核苷酸、以及核酸蛋白复合物或带负电荷的蛋白转染到真核细胞中，也可以用于活体动物的核酸转染以用于基因治疗。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂对于常见的哺乳动物细胞具有非常高的转染效率、重复性好、操作简单、无明显的细胞毒性，并且对于贴壁细胞和悬浮细胞都适用。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂的使用方法和常用的 Lipofectamine 2000 Reagent 基本一致。并且经过对 HEK293T、Hela、NIH3T3、HEK293FT、CHO 等细胞的测试，转染效率也和 Lipofectamine 2000 Reagent 相当甚至略高。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂不仅适用于质粒、siRNA 等单一成分的细胞转染，也适合多个质粒或者质粒与 siRNA 等的组合转染。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂转染过表达质粒后，通常 24-48 小时后达到较高的蛋白表达水平，并且很多情况下蛋白表达量在转染后 48 小时 显著高于转染后 24 小时；转染 siRNA 通常 3-5 天后对于目的基因的下调水平会比较理想。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂转染细胞时，基本不受细胞培养液中的血清和抗生素的影响，即可以在血清和抗生素存在的情况下进行细胞转染。但为了取得最佳的转染效果，推荐转染时使用不含抗生素的含血清的细胞培养液。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂的转染效果可以通过转染表达 EGFP 等荧光蛋白的质粒进行快速鉴定。
- ✧ 对于六孔板，一个包装的 0.5ml 通用型转染试剂大约可以转染 100 个孔；对于 24 孔板，一个包装的 0.5ml 通用型转染试剂大约可以转染 500 个孔。

保存条件

4℃ 保存。长期不使用可以-20℃ 保存。

注意事项

- ✧ 使用高纯度的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率。对于质粒，可以使用质粒大量抽提试剂盒进行抽提，以保证可以获得较高的转染效率。
- ✧ 转染前细胞必须处于良好的生长状态。
- ✧ 需自备不含抗生素的无血清培养液或 Opti-MEM 培养液或普通的 DMEM 培养液。
- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂不能 vortex 或离心，宜缓慢晃动混匀。

本产品仅供科研使用



- ✧ Lipo6000™通用型转染试剂使用后请立即盖好盖子，避免长时间暴露在空气中，影响转染效率。
- ✧ 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- ✧ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方明

1. DNA 转染:

- a. 细胞培养(以六孔板为例，其它培养板或培养皿可参考六孔板)：在转染前一天(18-24 小时)按照每孔约 20-70 万细胞(具体的细胞 数量据细胞类型、大小和细胞生长速度等而定)接种到六孔板内进行培养，使第二天细胞密度能达到约 70-90%。
- b. 在进行下述转染步骤前,把培养有细胞的六孔板每孔换成 2ml 新鲜培养液(含有血清,不含抗生素)。可以使用含有血清并含有 抗生素的新鲜培养液，但抗生素的存在对于有些细胞容易导致转染后出现一定的细胞毒性。
- c. 参考下表，对于待转染的六孔板中每一个孔的细胞，取两个洁净无菌离心管，分别加入 125μl 不含抗生素和血清的 DMEM 培养 液(高糖 DMEM 或低糖 DMEM 均可)或 Opti-MEM Medium，然后于其中一管加入 2.5μg 质粒 DNA，并用枪轻轻吹打混匀；另一管加入 5μl Lipo6000™通用型转染试剂，用枪轻轻吹打混匀，请特别注意不可 Vortex 或离心。室温静置 5 分钟后(通常最长不宜超过 25 分钟)，将含有 DNA 的培养液用枪轻轻加入含 Lipo6000™通用型转染试剂的培养液中，轻轻颠倒离心管或者用枪轻轻吹打混匀，室 温静置 5 分钟(室温存放 6 小时内稳定)。

	96-well	48-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
Lipo6000™通用型转染试剂	0.2μl	0.5μl	1μl	2μl	5μl	10μl	30μl
无血清培养液或 Opti-MEM Medium	5μl	12.5μl	25μl	50μl	125μl	250μl	750μl
DNA	100ng	250ng	500ng	1μg	2.5μg	5μg	15μg
无血清培养液或 Opti-MEM Medium	5μl	12.5μl	25μl	50μl	125μl	250μl	750μl
稀释好的 Lipo6000™通用型转染试剂和 DNA 分别室温静止放置 5 分钟，随后两者混合并混匀再室温静止放置 5 分钟							
每孔加入的混合物的量	10μl	25μl	50μl	100μl	250μl	500μl	1500μl
按照上述用量每孔均匀滴加 Lipo6000™通用型转染试剂和 DNA 的混合物，4-6 小时后更换培养液或直接继续培养							

本产品仅供科研使用



注 1：对于六孔板中一个孔的细胞，Lipo6000™通用型转染试剂的用量可以在 3-12.5μl 范围内进行适当调节，DNA 用量建议固定在 2.5 μg，但也可以在 1-4μg 的范围内进行适当调节。通常质粒用量(μg)和 Lipo6000™(μl)的用量比例为 1:2 或 1:3 比较常用，如有必要 可以在 1:0.5-1:5 的范围内优化转染效果，上表推荐的比例为 1:2，此时 Lipo6000™的用量相对较少，既经济又高效。最佳的转染条件，因不同的细胞类型和培养条件而有所不同，可以在上述推荐范围内自行优化转染条件。

注 2：质粒的浓度宜控制在 0.5-5μg/μl 范围内。 500μl 1500μl

注 3：对于多个孔转染相同数量相同质粒的情况可以把每个孔所需的 Lipo6000™通用型转染试剂和 DNA 混合物分别配制，然后一起混合在同一个离心管内，后续混匀并孵育 5 分钟后，可以按照推荐用量滴加到细胞培养器皿内。

注 4：对于其它培养板或培养器皿，各种试剂的用量可以按照细胞培养器皿的培养面积按比例进行换算。如果转染寡核苷酸或 RNA 等可以参考转染 DNA 的条件进行。

d. 无论是贴壁细胞还是悬浮细胞，按照六孔板每孔 250μl Lipo6000™通用型转染试剂-DNA 混合物的用量，均匀滴加到整个孔内，随后轻轻混匀。

e. 为达到最高的转染效率，细胞在转染后培养 4-6 小时后宜更换为新鲜的完全培养液(对于 HeLa 细胞，推荐在转染 4 小时后更换培养液，对于 NIH3T3、CHO、HEK293T 和 HEK293FT 细胞，推荐在转染 6 小时后更换培养液)。

f. 继续培养约 24-48 小时后，即可用适当方式检测转染效果，例如荧光检测、Western、ELISA、报告基因等，或加入适当的筛选药物如 G418 等进行稳定细胞株的筛选。

2. siRNA 转染：

a. 细胞培养(以六孔板为例，其它培养板或培养皿可参考六孔板)：在转染前一天(18-24 小时)按照每孔约 20-70 万细胞(具体的细胞 数量据细胞类型、大小和细胞生长速度等而定)接种到六孔板内进行培养，使第二天细胞密度能达到约 30-50%。

b. 在进行下述转染步骤前，把培养有细胞的六孔板每孔换成 2ml 新鲜培养液(含有血清，不含抗生素)。可以使用含有血清并含有 抗生素的新鲜培养液，但抗生素的存在对于有些细胞容易导致转染后出现一定的细胞毒性。

c. 参考下表，对于待转染的六孔板中每一个孔的细胞，取两个洁净无菌离心管，分别加入 125μl 不含抗生素和血清的 DMEM 培养 液(高糖 DMEM 或低糖 DMEM 均可)或 Opti-MEM Medium，然后于其中一管加入 100pmol siRNA，并用枪轻轻吹打混匀； 而另一管加入 5μl Lipo6000™通用型转染试剂，用枪轻轻吹打混匀，请特别注意不可 Vortex 或离心。室温静置 5 分钟后(通常最长不宜 超过 25 分钟)，将含有 siRNA 的培养液用枪轻轻加入含 Lipo6000™通用型转染试剂的培养液中，轻轻颠倒离心管或者用枪轻轻吹打混匀，室温静置 5 分钟(室温存放 6 小时内稳定)。



	96-well	48-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
Lipo6000™通用型转染试剂	0.2μl	0.5μl	1μl	2μl	5μl	10μl	30μl
无血清培养液或 Opti-MEM Medium	5μl	12.5μl	25μl	50μl	125μl	250μl	750μl
siRNA	4pmol	10pmol	20pmol	40pmol	100pmol	200pmol	600pmol
无血清培养液或 Opti-MEM Medium	5μl	12.5μl	25μl	50μl	125μl	250μl	750μl
稀释好的 Lipo6000™通用型转染试剂和 siRNA 分别室温静置放置 5 分钟，随后两者混合并混匀再室温静置放置 5 分钟							
每孔加入的混合物的量	10μl	25μl	50μl	100μl	250μl	500μl	1500μl
按照上述用量每孔均匀滴加 Lipo6000™通用型转染试剂和 siRNA 的混合物，4-6 小时后更换培养液或直接继续培养							

注 1：对于六孔板中一个孔的细胞，Lipo6000™通用型转染试剂的用量可以在 2.5-7.5μl 范围内进行适当调节，siRNA 用量可以在 50-250pmol 的范围内进行适当调节。通常 siRNA 用量(pmol)和 Lipo6000™(μl)的用量比例为 20:1，如有必要可以在 10:1-40:1 的范围内优化转染效果，上表推荐的 20:1，此时 Lipo6000™的用量相对较少，既经济又高效。最佳的转染条件，因不同的细胞类型和培养条件而有所不同，可以在上述推荐范围内自行优化转染条件。 1500μl

注 2：siRNA 的推荐浓度为 20μM，常用的浓度范围为 10-50μM。

注 3：对于多个孔转染相同数量相同质粒的情况可以把每个孔所需的 Lipo6000™通用型转染试剂和 siRNA 混合物分别配制，然后一起混合在同一个离心管内，后续混匀并孵育 5 分钟后，可以按照推荐用量滴加到细胞培养器皿内。

注 4：对于其它培养板或培养器皿，各种试剂的用量可以按照细胞培养器皿的培养面积按比例进行换算。如果转染寡核苷酸或 RNA 等可以参考转染 DNA 的条件进行。

- d. 无论是贴壁细胞还是悬浮细胞，按照六孔板每孔 250μl Lipo6000™通用型转染试剂-siRNA 混合物的用量，均匀滴加到整个孔内，随后轻轻混匀。
- e. 为达到最高的转染效率，细胞在转染后培养 4-6 小时后宜更换为新鲜的完全培养液(对于 HeLa 细胞，推荐在转染 4 小时后更换培养液，对于 NIH3T3、CHO、HEK293T 和 HEK293FT 细胞，推荐在转染 6 小时后更换培养液)。
- f. 继续培养 3-5 天后，即可用适当方式检测 siRNA 对于靶基因的下调效果，例如 qPCR、Western、ELISA、报告基因等。

本产品仅供科研使用



常见问题:

转染效率低:

- a. 优化质粒与 Lipo6000™通用型转染试剂比例, 对于难转染的细胞, 可适当加大质粒用量。
- b. 应用高纯度、无菌、无污染物的质粒进行转染, DNA 纯度方面 A260/A280 比值要接近 1.8, 通常宜控制在 1.8-1.9 范围内, 偏低则 有可能有蛋白污染, 偏高则有可能有 RNA 污染。可以使用碧云天生产的质粒大量抽提试剂盒(D0026)进行抽提, 以保证可以获 得较高的转染效率。
- c. 贴壁细胞转染时状态良好, 细胞密度达 30-50%时才可进行转染, 过稀可能影响转染效率, 细胞密度达到 50-90%时通常不会影 响转染效率。不同细胞的最佳转染密度需要自行摸索。悬浮细胞 宜在对数生长期进行转染。
- d. 需使用无抗生素和无血清培养液配制 Lipo6000™通用型转染试剂和质粒或 siRNA 等的混合物。
- e. 转染后培养时间不足, 而被误以为转染效率偏低。不同细胞转染后至显著表达所需要培养的时间通常为 24-48 小时。
- f. 检查细胞是否有支原体感染, 支原体感染会影响细胞增殖, 并很可能影响转染效率。
- g. 如果没有检测到目的蛋白表达, 应该仔细核对转染质粒的测序结果, 确保测序结果和读码框完全正确。
- h. 如果靶基因的敲减(knockdown)效果欠佳, 应该考虑尝试设计不同的 siRNA。

2. 细胞毒性较大:

- a. 缩短转染时间, 在转染后较短时间内更换新鲜的细胞培养液。
- b. 减少质粒用量, 按照比例减少 Lipo6000™通用型转染试剂。
- c. 检查是否转染时细胞密度太低。



安徽科兔生物技术有限公司
Anhui Ketu Biotech Co.,Ltd

本产品仅供科研使用

Tel:400-079-0900 Web:www.ketubio.com Email:ketubio@163.com