

LipoTrans™ Plus 高效转染试剂操作说明

Version 1.0

产品编号	产品名称	规格	保存条件
PZ-LTSP1000	LipoTrans™ Plus 高效转染试剂	1ml	4℃保存，一年有效（避免反复冻融）
PZ-LTSP3000	LipoTrans™ Plus 高效转染试剂	3ml	4℃保存，一年有效（避免反复冻融）
PZ-LTSP5000	LipoTrans™ Plus 高效转染试剂	5ml	4℃保存，一年有效（避免反复冻融）

❖ LipoTrans™ Plus 简介

LipoTrans™ Plus 高效转染试剂(Liposomal Transfection Reagent)是一种适合于把质粒或其它形式的核酸，以及核酸蛋白复合物转染到真核细胞中的高效阳离子脂质体转染试剂。

❖ LipoTrans™ Plus 优点

- 转染效率高，重复性好，操作简单。
- 无明显细胞毒性，用 LipoTrans™ Plus 转染细胞后，对于大多数细胞 72 小时内不更换培养液无明显细胞毒性。
- LipoTrans™ Plus 对于贴壁细胞和悬浮细胞都适用，并且可用于稳定表达细胞株的筛选。
- 操作方便，可不必换成无抗生素的培养基。

❖ LipoTrans™ Plus 使用说明

1. 细胞培养：以 293T 细胞为例，转染前一天(16-24 小时)，约 0.4×10^6 细胞(具体的细胞数量据细胞大小和细胞生长速度而定)铺到六孔板内,使第二天细胞汇合度(confluent)能达到约 50%~70%。

❖ 备注：其它培养板或培养皿、接种数目请按照比例自行换算。

2. 在进行下述转染步骤前,把六孔板每孔内换成新鲜细胞培养液。培养液的体积约为 2 ml。

❖ 备注：1) 其他培养介质培养液体积参见《各种培养介质下 LipoTrans™ Plus 转染 DNA 参考表》；2) 抗生素、Glutamine 等对 LipoTrans™ Plus 转染并无影响。如果 LipoTrans™ Plus 对目的细胞毒性较大，建议去除转染体系内的抗生素。

3. 轻轻混匀 LipoTrans™ Plus 脂质体转染试剂。

4. 以六孔板中一个孔为例，取一只洁净无菌离心管，加入 4 μ g 质粒 DNA（其他培养介质 DNA 用量参见附表）到 250 μ l DMEM 溶液，用枪轻轻吹打混匀。取另一只洁净无菌离心管，加入 250 μ l DMEM 溶液，再加入 6 μ l LipoTrans™ Plus，用枪轻轻吹打混匀,室温放置 5 分钟。

❖ 备注：其他培养介质培养液体积参见《各种培养介质下 LipoTrans™ Plus 转染 DNA 详表》，如后续实验需要，可将 DMEM 用其他如 1640、MEM、F12 等培养基代替。

5. 将上述中的 DNA 溶液与 LipoTrans™ Plus 溶液混合，共 500 μ l，用枪轻轻吹打混匀。

❖ 注意：不可 Vortex 或离心。

6. 室温孵育 20 分钟。有可能出现絮状沉淀物，属正常现象，不会影响转染效率。

7. 无论是贴壁细胞还是悬浮细胞，均把 500 μ l LipoTrans™ Plus -DNA 混合物全部加入六孔板的一个孔内。加入时注意尽量均匀加入整个孔内，随后轻轻“8”字摇摆混匀。

✧ 备注：针对贴壁细胞，如上述所说，只需将 LipoTrans™ Plus -DNA 复合物加入细胞中孵育 6 小时再换液即可。若是转染悬浮或半悬浮细胞，则推荐通过平角离心转染法，即将适量的 LipoTrans™ Plus -DNA 复合物加入细胞培养皿后，封口膜封好，放入平角离心机，低速（200 g）离心 1.5 小时，然后放入培养箱中正常培养 6 小时再换液即可。

8. 细胞培养箱内培养 6-12 小时后，去除含有 LipoTrans™ Plus -DNA 的培养液。每孔加入 2 ml 新鲜含血清的细胞培养液继续培养。

✧ 备注：通常 LipoTrans™ Plus -DNA 混合物和细胞一起孵育 6 小时已经足够产生较高的转染效率。大多数细胞和 LipoTrans™ Plus -DNA 一起培养长达 72 小时未见明显细胞毒性。但转染后 6 小时更换新鲜培养液对于一些生长非常快速的细胞有助于提高转染效率。对一些比较易于转染的细胞如 HEK-293T 细胞，换液可视细胞生长状况而定，无需为提高转染效率而换液。

9. 转染后续处理：

➤ 对于基因表达，再培养 24-40 小时后即可检测转染效果，如转染带 GFP 或者其他荧光基因的表达式载体，可用荧光显微镜观测细胞转染效率。

➤ 用于筛选稳定表达细胞株，则在转染后 24 小时即可加入适当的筛选药物，例如 G418 或 Puromycin（嘌呤霉素）等，进行稳定表达细胞株的筛选。

10. 转染后语

✧ 对于一个六孔板的一个孔来说，LipoTrans™ Plus 的用量通常是 4-8 μl（质粒量 / LipoTrans™ Plus 量 = 1:1 ~ 1:2）。因细胞类型及培养条件、转染参数等不同，因此，为了获得最佳转染条件，我们建议在上述参数推荐范围内自行优化。

✧ 对于多个孔转染相同质粒相同质量的情况，可以把每个孔所需的 LipoTrans™ Plus 和 DNA 混合物配置在一个离心管内，后续混匀孵育等步骤后可以分加到各个孔内。

- ✧ 对于其它培养器皿，各种试剂的用量可以参考附录《各种培养介质下 LipoTrans™ Plus 转染 DNA 参考表》进行换算。

附录一

各种培养介质下 LipoTrans™ Plus 转染 DNA 参考表

类型 (培养皿/板)	表面积/cm ²	培养液体积	溶剂 DMEM 对应体积/ul	DNA 量	LipoTrans™ 添加量
96-well	0.3 cm ²	100 ul	2×25 ul	0.2 ug	0.2-0.4 ul
48-well	0.8 cm ²	350 ul	2×37.5 ul	0.5 ug	0.5-1 ul
24-well	2 cm ²	500 ul	2×50 ul	0.8 ug	0.8-1.6 ul
12-well	4 cm ²	1 ml	2×100 ul	1.6 ug	1.6-3.2 ul
6-well	10 cm ²	2 ml	2×250 ul	4.0 ug	4-8 ul
6cm	20 cm ²	4 ml	2×500 ul	8.0 ug	8-16 ul
10cm	60 cm ²	12 ml	2×1000 ul	24 ug	24-48 ul

附录二

LipoTrans™ Plus 转染示意图

