

Labfect5000 transfection reagent

货号: T2123

存储条件: 4-8°C保存, 有效期一年。每次使用前请先将本品轻轻混匀。

产品组分:

组分	LabFectPM Prime	Trans buffer S	溶液 A
T2123-0.5 ml	0.5 ml	20 ml	1 ml
T2123-1 ml	1.0 ml	40 ml	2 ml
T2123-1.5 ml	1.5 ml	60 ml	3 ml

产品简介:

LabFect5000 是一款通用型核酸转染试剂, 适用于将质粒 DNA 转染入哺乳动物细胞。LabFect5000 具有非常优异的转染性能, 可转染绝大多数贴壁细胞和部分悬浮细胞。LabFect5000既可高效转染质粒DNA分子, 也可高效转染siRNA、miRNA、inhibitor等小分子核酸。同时也可高效转染绝大多数贴壁细胞和悬浮细胞。在部分贴壁细胞中, LabFect5000 Prime 质粒DNA的转染阳性率可高达90%以上, Fam-siRNA的转染阳性率可高达95%以上。即使对于较难转染的细胞, 如神经细胞HT-22、N2A、神经胶质细胞BV2、巨噬细胞Raw264.7、白血病细胞K562、结肠癌细胞HCT116、SW480、胃癌细胞AGS等也有较为显著的转染效果。

LabFect5000采用可降解材料配制, 对细胞的毒性很低, 转染后24小时细胞几乎无明显死亡。本试剂使用也非常方便, 先将转染试剂与DNA或siRNA混合, 再将该转染复合物直接加入培养细胞中, 血清不影响其转染效果, 不必再刻意添加或更换培养液, 操作十分简单。

LabFect5000 转染试剂的特点:

可高效转染多种贴壁细胞和部分悬浮细胞等, 在部分贴壁细胞中的质粒DNA转染阳性率可高达90%以上, Fam-siRNA的转染阳性率可高达95%左右。

极低的细胞毒性: 使用可降解生物材料, 细胞毒性低, 转染细胞死亡率不到10%, 大大降低了因细胞毒性对实验结果的影响。

转染注意事项:

- 首次使用, 建议进行优化实验, 以摸索最优搭配比例。如24孔培养板, 每孔质粒用量0.8ug, 转染试剂用量可选择0.8ul、1.0ul、1.2ul进行优化。24孔板siRNA转染, LabFect5000 Prime用量1ul, siRNA用量可选24pmol、36pmol、48pmol进行优化。
- 进行质粒转染, 接种细胞的数量应以确保转染时的细胞汇合度在80-90%为准, 过高或过低均会影响转染效率。进行siRNA转染, 接种细胞的数量应以确保转染时的细胞汇合度在40-60%为准。
- 溶液A仅用于质粒转染, RNA或siRNA转染不需加入
- 注意质粒转染和siRNA转染时对细胞密度要求的差异, 不要混用同一条件。
- 如果需要质粒稳转, 请在转染24-48h后加入筛选培养基
- 如要转染多个细胞孔, 可在同一管内配制转染复合物, 再分到各个细胞孔。

操作步骤:

一、质粒DNA转染(以24孔板转染为例):

细胞接种:

1. 转染前一天对细胞进行转接, 每孔接种 $0.8-1.5 \times 10^5$ 个细胞, 使转染时细胞密度为85%左右, 且生长良好(非常重要);

2. 最好在转染开始之前更换新鲜的含血清培养基, 以防转染后孵育阶段细胞密度太大、营养不足导致细胞死亡。

DNA转染复合物制备(该步完成后应立即进行转染):

1. 在1.5 ml无菌离心管中加入40 μ l Trans buffer S, 再加入1ul转染试剂, 其它规格培养板用量见附表, 用移液器轻轻混匀。

2. 向上述离心管中加入2ul溶液A, 轻轻混匀, 再加入0.8ug DNA, 用移液器再次轻轻混匀, 室温静置15分钟。其它规格培养板溶液A和DNA具体用量见附表。

注: 离心管最好使用洁净的聚丙烯离心管。

转染:

1. 将步骤B制备的转染复合物滴加至细胞培养孔中, 边加边轻轻晃动培养板以使复合物均匀分布, 再立即将培养板转入培养箱继续培养。

2. 培养24小时后即可观察, 但最佳观察时间为36-48小时。如果需要, 细胞培养24小时后可以更换新鲜完全培养基, 但不是必须。



3. 收获细胞，进行后续实验。如需进行稳定转染，在转染24~48小时后，可选用选择培养基传代培养。

注：LabFect5000在完全培养基中仍有较高的转染效率，因此转染前后细胞培养板内不需要换成无血清或低血清培养基。

二、siRNA转染（以24孔板转染为例）：

细胞接种：

1. 转染前一天对细胞进行转接，使转染时细胞密度为50%左右，且生长良好、无支原体污染（非常重要）；
2. 最好在转染开始之前更换新鲜的含血清培养基，以防转染后孵育阶段细胞密度太大、营养不足导致细胞死亡。

siRNA转染复合物制备（该步完成后应立即转染）：

1. 在1.5 ml无菌洁净离心管中加入40 μ l Trans buffer S, 再加入1 μ l转染试剂, 其它规格培养板用量见附表, 用移液器轻轻混匀。
2. 向上述离心管中加入36 pmol siRNA, 用移液器轻轻混匀, 室温静置15分钟。其它规格培养板 siRNA 具体用量见附表。

注意：离心管最好使用洁净的聚丙烯离心管。

转染：

1. 将步骤B制备的转染复合物滴加至培养基中，边加边轻轻晃动培养板混匀，再立即将培养板转入培养箱继续培养。
2. 37 $^{\circ}$ C培养24-72h，检测基因抑制效果。如果需要，细胞培养24h后可以更换培养基，但不是必须。如要观察Fam-siRNA转染情况，请吸去含荧光的老培养基，用0.01M PBS或新鲜培养基清洗细胞2次，以防荧光背景过高，影响观察效果。

注1：LabFect5000 Prime在完全培养基中仍有较高的转染效率，因此转染前后不需要换成无血清或低血清培养基。

附表1：质粒转染不同培养体系推荐初始转染条件

培养皿		96 孔板	48 孔板	24 孔板	12 孔板	6 孔板	10cm 皿
表面积 (cm ²)		0.35	1.0	1.9	3.8	9.6	59
Trans buffer、试剂、DNA 量	Trans buffer S(μ l)	10	20	40	80	160	800
	溶液A(μ l)	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	20
	LabFect5000 (μ l)	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	20
	1 μ g/ μ l plasmid (μ l)	0.2	0.1	0.8	1.6	3.2	16
完全培养基 (ml)		0.12	0.25	0.5	1	2	10

附表2：siRNA转染不同培养体系推荐初始转染条件

培养皿		96 孔板	48 孔板	24 孔板	12 孔板	6 孔板	10cm 皿
Trans buffer、试剂、DNA 量	Trans buffer S(μ l)	10	20	40	80	160	800
	LabFect5000 (μ l)	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	20
	siRNA (pmol)	9	18	36	72	140	700
完全培养基 (ml)		0.12	0.25	0.5	1	2	

