

Labfect 核酸共转染试剂盒

货号: T2136

存储条件: -20°C 避光保存, 有效期一年, 使用前请轻轻混匀。

产品简介

Labfect 核酸共转染试剂盒是我公司研发的专门用于将质粒 DNA、siRNA 或 mimics 共同转染于同一细胞的试剂盒。Labfect 具有非常卓越的转染性能, 可将质粒 DNA 和 siRNA 高效地共转染于绝大多数贴壁细胞和原代细胞。在贴壁细胞中, 质粒 DNA 转染效率可高达 90%以上, siRNA 在质粒转染阳性细胞中共转染效率可高达 95%以上。Labfect 共转染试剂不仅可高效转染质粒 DNA 和 siRNA, 还可高效转染 mRNA、mimics、反义核酸和各种小分子 DNA。与目前市场上常见的脂质体转染试剂不同, Labfect 采用生物可降解材料配制, 对细胞的毒性很低, 转染后 24 小时细胞死亡率不到 10%。Labfect 使用也非常方便, 先将转染试剂与质粒 DNA 和 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, 不必刻意添加或更换培养液, 操作十分简便。

产品特点:

卓越的质粒 DNA 与 siRNA 共转染性能, 可高效转染多种贴壁细胞和原代细胞, 质粒 DNA 转染效率在贴壁细胞中可高达 90%以上, siRNA 在质粒转染阳性细胞中共转染效率高达 95%以上;

共转染功能强大, 不仅可将质粒 DNA 与 siRNA 共转染于同一细胞, 还可共转染 mRNA、mimics、反义核酸于同一细胞;

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。

操作步骤 (以 24 孔板转染为例):

A. 细胞接种:

1. 转染前一天对细胞进行转接, 每孔接种 $0.8-1.0 \times 10^5$ 个细胞, 使转染时细胞密度为 80-90%, 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。

B. Labfect 核酸共转染-复合物制备 (该步完成后应立即进行转染):

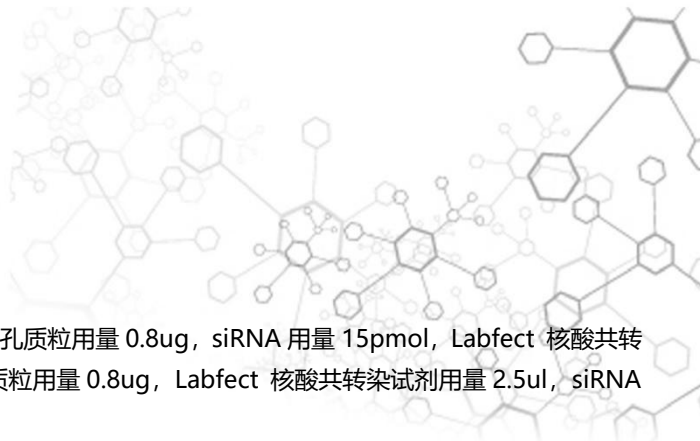
1. 在 1.5 ml 无菌离心管中加入 50 μ l 无血清培养基 (推荐 DMEM), 再加入适量的转染试剂, 见附表。用移液器轻轻混匀, 室温静置 5 分钟。
2. 在 1.5 ml 无菌离心管中加入 50 μ l 无血清培养基, 再加入适量的 DNA, 轻轻混匀, 之后再加入适量的 siRNA, 见附表。用移液器再次轻轻混匀, 室温静置 5 分钟。
3. 将 DNA-siRNA-培养基混合物滴加至 Labfect 共转染试剂-培养基混合物中, 用移液器轻轻混匀, 室温静置 15~20 分钟, 立即转染。

注: Labfect 共转染试剂-培养基混合物和 DNA-siRNA-培养基混合物的混合次序非常重要, 切勿颠倒。离心管最好使用聚丙烯离心管。

C. 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以使复合物均匀分布。加完后, 立即将培养板转入培养箱继续培养。
2. 培养 24-48 小时后观察或进行下一步实验。
3. Labfect 核酸共转染试剂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。





注意事项:

1. 首次转染, 请务必进行优化实验, 如 24 孔板质粒转染, 每孔质粒用量 0.8ug, siRNA 用量 15pmol, Labfect 核酸共转染试剂可选择 2.0ul、2.5ul、3.0ul、进行优化。或者, 每孔质粒用量 0.8ug, Labfect 核酸共转染试剂用量 2.5ul, siRNA 用量选择 10pmol、15pmol、20pmol、25pmol 进行优化。
2. 转染前接种细胞的数量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。在制备 DNA-siRNA 转染复合物时, 应避免体系中存在血清 (推荐 DMEM)。培养体系中尽量不要添加抗生素, 抗生素会导致培养细胞死亡。

附表 1: 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
培养基、试剂、 核酸量	无血清培养基(μl)	2x10	2x25	2x50	2x100	2x200	2x1000
	LabFect 共转染试剂 (ul)	0.5	1.3	2.5	5.0	10	50
	1μg/μl plasmid (μl)	0.16	0.4	0.8	1.6	3.2	16
	siRNA (pmol)	3	8	15	30	60	300
完全培养基(ml)		0.10	0.25	0.50	1.0	2.0	10

