

# M5 SuperFast Next-Generation Lipo2000 Transfection Reagent

## 新一代超快 lipo2000 转染试剂

### 使用说明书

| 产品名称   | 单位     | 货号        |
|--|--------|-----------|
| M5 SuperFast Next-Generation Lipo2000 Transfection Reagent | 0.75ml | MF2035-01 |
| M5 SuperFast Next-Generation Lipo2000 Transfection Reagent | 1.5ml  | MF2035-02 |

**【储存条件】** 2~8°C 保存，无菌取用，有效期 24 个月。

#### 【产品简介】

本产品是一种由脂质体介导的转染试剂，适用于多种贴壁或悬浮细胞的质粒 DNA、RNA 转染。本产品经过精心设计，使其兼具优异的脂质体/核酸复合物形成能力和转染到细胞内核酸的快速释放能力，保证了优异的转染性能和较低的细胞毒性。形成的脂质体/核酸复合物可以直接加入完全培养基中，血清和抗生素的存在不影响其转染效果，转染前后不需要更换培养基，操作十分简便。

#### 【产品特点】

- 细胞兼容广，可用于多种贴壁/悬浮细胞的转染；
- 转染效率高，对于质粒 DNA、RNA 均能实现高效转染；
- 细胞毒性低，转染后无需更换培养基。

#### 【适用细胞系】

适用于绝大多数真核贴壁/悬浮细胞的质粒 DNA、RNA 转染：293T, A549, HeLa, SW480, 4T1, Jurkat, NIH3T3, MDA-MB-453, Vero, K562, Raw264.7 等。

#### 【注意事项】

1. 质粒 DNA：请用去除内毒素的方法制备高质量的质粒 DNA，推荐聚合美货号 MF985（“易高得”无内毒素质粒大提试剂盒）。
2. 培养基：经过 DMEM、RPMI-1640 和 M199 等常规培养基测试，推荐使用减血清培养基 opti-MEM（聚合美货号 MF988），若转染效果不理想可尝试其它培养基。
3. 以 24 孔细胞板转染实验为例，推荐每孔低内毒素质粒 DNA 用量为 0.5 $\mu$ g、转染试剂用量为 1.5 $\mu$ l，比例为 1:3。请在正式实验前根据不同细胞和不同培养基用报告基因进行优化用量比例。
4. 对于大多数哺乳动物贴壁细胞系，立传立转要求使用生长旺盛的细胞，即细胞生长至 60-80%成片或刚长满。若使用生长过老的细胞，将明显影响立传立转的效率。
5. 细胞转染实验手法要求轻柔，转染试剂和 DNA 应先分别使用 opti-MEM 单独稀释后，再将 DNA/opti-MEM 滴加到 lipo2000/opti-MEM 中，混匀以形成复合物。

**【操作步骤】****以瞬时转染 24 孔板培养细胞为例****一、细胞接种**

1. 将新鲜消化的贴壁细胞接种到 24 孔细胞板中，接种密度为每孔  $1\sim 2\times 10^5$  细胞。
2. 过夜培养 24 小时。

**二、配制 lipo2000/DNA 复合物**

1. 在无菌离心管中加入 25 $\mu$ l opti-MEM，然后加入 1.5 $\mu$ l lipo2000 转染试剂，用移液器轻柔混匀。
2. 在无菌离心管中加入 25 $\mu$ l opti-MEM，然后加入 0.5 $\mu$ g DNA，用移液器轻柔混匀。
3. 将 DNA/opti-MEM 滴加到 lipo2000/opti-MEM 中，用移液器轻柔混匀，室温静置 5 分钟后可用于后续转染。

**三、转染**

1. 将上述 lipo2000/DNA 复合物直接滴加到细胞培养基中，轻轻晃动培养皿使其均匀分散。

特殊情况下，可在转染开始之前更换新鲜的含血清培养基，以防止转染后培养阶段细胞密度过大导致营养不足而死亡。

2. 过夜培养 24-48 小时。

如需在转染后更换新鲜培养基，请在加入 lipo2000/DNA 复合物 6~12 小时后再更换。

3. 24~72 小时后根据实验需要进行瞬时表达分析或稳定细胞系加压筛选。

对于一些转染效率高的细胞系如 BHK-21 等，可在转染后 24 小时进行后续实验。

**【推荐用量表】**

|  | 96 孔板 | 24 孔板 | 6 孔板  | 6cm 板 | 10cm 板 |
|--|-------|-------|-------|-------|--------|
| 培养皿表面积 (cm <sup>2</sup> )                | 0.35  | 1.9   | 9.6   | 20    | 59     |
| opti-MEM 用量 ( $\mu$ l)                   | 2x5   | 2x25  | 2x100 | 2x250 | 2x500  |
| lipo2000 用量 ( $\mu$ l)                   | 0.3   | 1.5   | 7.5   | 30    | 45     |
| 1 $\mu$ g/ $\mu$ l 的质粒 DNA 用量 ( $\mu$ l) | 0.1   | 0.5   | 2.5   | 10    | 15     |
| 可转染培养基的体积 (ml)                           | 0.1   | 0.5   | 2     | 5     | 10     |

以上仅供参考，建议根据细胞类型优化

## 【常见 FAQ】

### 常见问题一：转染效率偏低

#### 可能的原因及解决方案：

##### 1、lipo2000 与 DNA 的比例不合适

通过预实验优化 lipo2000 与 DNA 的比例：在 lipo2000 1-5  $\mu\text{l}/\mu\text{g}$  DNA 范围内尝试，优化 DNA 的使用量：以 24 孔板为例，在 0.5-2  $\mu\text{g}/\text{孔}$  范围内优化。在后续的实验中选择转染效率高、细胞毒性低的比例进行转染。

##### 2、lipo2000 原液或/和 DNA 原液未经无血清培养基稀释直接混合，lipo2000 和 DNA 需分别在无血清培养基条件下按一定比例稀释后再进行混合孵育。

##### 3、转染时细胞密度不合适

多数情况下，当细胞汇合度达到 60%-80%时，转染可以取得较高的转染效率。然而细胞类型不同，合适的转染密度也不尽相同，可以通过预实验优化细胞转染密度。

##### 4、DNA 质量偏低(降解或内毒素)

为实现高效率、低毒性的转染，应使用高纯度、无菌、无内毒素的质粒 DNA。

##### 5、细胞状态偏差

传代次数太少或者太多都将导致细胞转染效率的改变。因此，为了提高转染效率以及转染稳定性，应尽量使用适度传代的细胞系，并尽量在平行实验时保持细胞传代次数的一致性。另外，支原体的感染或爆发会影响细胞的转染效率，建议使用支原体检测和/或清除试剂盒处理。

### 常见问题二：转染后细胞状态差

#### 可能的原因及解决方案：

##### 1、转染后细胞培养时间过长

多数情况下，在完全培养基中进行转染，24 h 内无需换液处理，但是培养时间过长可能会导致细胞状态较差，建议根据实验需要合理安排后续实验时间。

##### 2、转染时细胞密度不合适

多数情况下，当细胞汇合度达到 60%-80%时转染可以取得较高的转染效率。细胞密度过低导致细胞生长缓慢，对外来刺激变得较为敏感，使得转染毒性增高。细胞密度过高，会导致细胞发生接触抑制，加快细胞凋亡。

##### 3、lipo2000/DNA 过量

转染试剂过量会导致较高的细胞毒性。尝试降低转染试剂的使用比例或者减少 DNA 用量。

##### 4、lipo2000/DNA 复合物加入培养基时分布不均匀

局部 lipo2000/DNA 复合物浓度过高是导致细胞毒性偏高的常见原因之一。当 lipo2000/DNA 添加到细胞培养孔/皿之后，应即刻轻轻摇动培养板/皿，使之完全混匀。

##### 5、细胞状态偏差

传代次数太少细胞状态未恢复，或者传代次数太多细胞老化，都将由细胞生长状态不适而导致转染试剂毒性增加。因此应尽量使用适度传代的细胞，降低细胞代次差异对实验结果造成的影响。

#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。