北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

Lipo3K Transfection Reagent

产品简介:

Lipo3K 试剂采用了先进的脂质纳米颗粒技术，实现绝佳转染性能和可重复性的结果。其可针对最广泛类型的常见及难转染细胞，实现超高转染效率，同时提供更高的细胞活力。 Lipo3K 性质温和毒性低优化了转染过程的全部四个步骤，并结合先进的脂质纳米颗粒技术。绝佳的转染性能可以降低所需的试剂量，并降低所有可能对您的细胞系产生毒性的风险。对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率；转染时血清的存在不影响转染效率的优点。

适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

1) 卓越的转染效率—针对最广泛类型的难转染细胞，可将效率提升 3 ~ 10 倍
2) 作用温和，细胞毒性低—可改善细胞活力
3) 高性价比高，同时实现顶级的转染结果

产品储存: 2-4℃ 保存一年。 (避免冷冻) [A 液(绿盖)助染， B 液(红盖)转染]

细胞转染注意事项: **（每次转染一定要进行预实验，来摸索最佳条件，尤其是转染试剂的最佳用量！）**

使用方法: DNA 的转染和 siRNA 转染

转染 siRNA 至细胞中时，完全遵循如上所述的 DNA 实验方案。

对大多数细胞来说，转染时高的细胞密度可以得到高的转染效率和表达水平，并能减少细胞毒性。

1. 接种细胞至 70-90% 汇合度时转染
2. 使用 Opti-MEM 培养基稀释 Lipo3K®-B 试剂 (建议用 2 管) ，充分混匀
3. 使用 Opti-MEM 培养基稀释 DNA ，制备 DNA 预混液，然后添加 Lipo3K®-A 试剂，充分混匀。
4. 在每管已稀释的 Lipo3K®-B 试剂中加入以上稀释的 DNA (1:1 比例) 。
5. 室温孵育 5 ~ 15 分钟。
6. 加入 DNA- 脂质体复合物至细胞中。
7. 37℃ 孵育细胞 2 - 4 天。然后分析转染细胞。

细胞培养容器		96-well	24-well	6-well
贴壁细胞		1～4 × 10^4	0.5～2 × 10^5	0.25～1 × 10^6
步骤1 (建议用2管) Opti-MEM培养基稀释Lipo3K®-B试剂	Opti-MEM培养基	5 µL × 2	25 µL × 2	125 µL × 2
	Lipo3K®-B	0.15和0.3 µL	0.75和1.5 µL	3.75和7.5 µL
步骤2 Opti-MEM培养基稀释DNA，制备DNA预混液，然后添加 Lipo3K®-A试剂，充分混匀	Opti-MEM培养基	10 µL	50 µL	250 µL
	DNA (0.5–5 µg/µL)	0.2 µg	1 µg	5 µg
	Lipo3K®-A试剂(2 µL/µg DNA)	0.3～0.4 µL	1.5～2 µL	8～10 µL
步骤3 Lipo3K®-B试剂中加入稀释的DNA (1:1比例)	稀释的DNA (步骤2产物)	5 µL	25 µL	125 µL
	稀释的Lipo3K®-B (步骤1产物)	5 µL	25 µL	125 µL
步骤3得到混合物即是DNA-脂质体复合物，室温孵育5～15分钟				
加入DNA-脂质体复合物至细胞中		96-well	24-well	6-well
	DNA-脂质体复合物	10 µL	50 µL	250 µL
37°C孵育细胞2–4天。然后分析转染细胞。				

北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

常见细胞的转染效率（仅供参考，实验条件不同转染效率会有较大差别）

细胞种类	HEK293	293T	293F	HCT 116	WRL -68	HepG2	NIH/3T3	THP-1	Hela	MCF-7	CHO-S	TS cell	HO1980	A549
转染效率	>90%	>90%	>90%	>80%	>80%	>80%	>0%	>70%	>80%	>80%	>90%	>70%	>70%	>80%
细胞种类	MEF	BE(2)C	CHO	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929
转染效率	>60%	>80%	>90%	>60%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%

细胞转染注意事项：

细胞 /DNA/siRNA 每次都不同，建议每次转染一定要进行预实验来摸索最佳条件，尤其是转染试剂的最佳用量！

1) 转染试验失败的原因： DNA/siRNA ，转染试剂和细胞。转染效率低要先排除一下是否是 siRNA 的问题，如果 siRNA 无效，换再好的转染试剂也没意义，可以用带荧光标记的 control siRNA 做一下看看，转进去的话会有荧光的。确实转染效率低，可以考虑换转染试剂；毒性大则要减少转染试剂的用量。
2) 细胞的种类和状态影响较大：转染时细胞必须处于良好生长状态，转染时细胞的密度一般铺板率在达到 70—80% 最好（此时细胞处于对数生长期）；
3) 如果是贴壁细胞，应保证贴壁在 12 ~ 24 小时在进行转染，否则细胞转染容易脱壁。对于贴壁生长细胞，一般要求在转染前一日，必须应用胰酶处理成单细胞悬液，重新接种于培养皿或瓶，转染当日的细胞密度以 70-90% （贴壁细胞）或 2×10^{6}-4×10^{6} 细胞 /ml （悬浮细胞）为宜，最好在转染前 4h 换一次新鲜培养液。
4) 质粒的大小，质量和用量对转染效率很关键。
5) 转染时注意脂质体和用量，过量的话对细胞毒性大也容易失败。
6) 转染作用 6 小时一定记得要换含血清的培养基
7) 培养基以及洗涤细胞和稀释用的培养基要无血清、无双抗。
8) 转染试剂对个别细胞可能有一定毒性，在转染过程由于提高细胞的通透性因而不能在培养答基中添加抗生素。
9) 高纯度的 DNA 或 RNA 可获得较高的转染效率！用于转染的质粒 DNA 必须无蛋白质，无 RNA 和其他化学物质的污染， OD260/280 比值应在 1.8 以上。血清中含有大量的蛋白质，在转染过程中，带负电的蛋白质可能干扰阳离子脂质体对核酸的吸附，影响转染效率。另外，使用脂质体等转染试剂时，由于含血清转染会将血清中的蛋白带入细胞，引发细胞毒性，导致转染效率降低，故用无血清培养基转染效果更好！
10) 培养基中的血清：在开始准备 DNA 和转染试剂稀释液时要使用无血清的培养基，因为血清会影响复合物的形成。其实，只要在 DNA- 转染试剂复合物形成时不含血清，在转染过程中是可以使用血清的。
11) 培养基中的抗生素：抗生素是影响转染的培养基添加物。这些抗生素一般对于真核细胞无毒，但阳离子脂质体试剂增加了细胞的通透性，使抗生素可以进入细胞。这降低了细胞的活性，导致转染效率降低。
12) 一般在转染 24-48h ，靶基因即在细胞内表达。根据不同的实验目的， 24-48h 后即可进行靶基因表达的检测实验。
13) 如若建立稳定的细胞系，则可对靶细胞进行筛选，根据不同基因载体中所含有的抗性标志选用相应的药物，常用的真核表达基因载体的标志物有潮霉素和新霉素等。
14) 建议设置阳性对照和阴性对照。

北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www. bjoka- vip. com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

Lipo3K® Transfection Reagent

Description

Lipo3K® is a newly developed and proprietary reagent for the transfection of nucleic acids into eukaryotic cells.

To obtain the highest transfection efficiency and low non-specific effects, optimize transfection conditions by varying DNA and Lipo3K® concentrations and cell number. Make DNA-Lipo3K complexes in serum-free medium such as Opti-MEM Reduced Serum Medium and add directly to cells in culture medium, in the presence or absence of serum/antibiotic. It is not necessary to remove complexes or change/add medium after transfection. The amount of Lipo3K Reagent for successful transfection varies. Start any new transfection by testing the recommended two concentrations of Lipo3K Reagent to determine an optimum amount.

Contents and Storage

Lipo3K® is supplied in liquid form in 2 bottles. Store at 4 ºC. DO NOT FREEZE.

Protocols : **Performing optimization first before transfection !**

To transfect cells with siRNA, follow the protocol as described for DNA.

1.Make sure that seed cells are greater than 70~90% confluent before transfection.

2.Dilute Lipo3K®-B Reagent in Opti-MEM Medium (2 tubes recommended) – Mix well

3. Prepare master mix of DNA by diluting DNA in Opti-MEM Medium, then add Lipo3K®-A Reagent – Mix well.

4. Add Diluted DNA to each tube of Diluted Lipo3K-B Reagent (1:1 ratio)

5. Incubate for 10–15 minutes at room temperature

6. Add DNA-lipid complex to cells

7. Incubate cells for 2–4 days at 37°C. Then, analyze transfected cells.

Procedure Details (Two Reaction Optimiz ation)			
Component	96-well	24-well	6-well
Adherent cells	1–4 × 10^4	0.5–2 × 10^5	0.25–1 × 10^6
Opti-MEM™ Medium	5 µL × 2	25 µL × 2	125 µL × 2
Lipo 3K-B Reagent	0.15 and 0.3 µL	0.75 and 1.5 µL	3.75 and 7.5 µL
Opti-MEM Medium	10 µL	50 µL	250 µL
DNA (0.5–5 µg/µL)	0.2 µg	1 µg	5 µg
Lipo 3K-A Reagent (2 µL/µg DNA)	0.4 µL	2 µL	10 µL
Diluted DNA (with Lipo3K-B Reagent)	5 µL	25 µL	125 µL
Diluted Lipo 3K-A Reagent	5 µL	25 µL	125 µL
Incubate for 10–15 minutes at room temperature			
component (per well)	96-well	24-well	6-well
DNA-lipid complex	10 µL	50 µL	250 µL
DNA amount	100 ng	500 ng	2500 ng
P3K™ Reagent	0.2 µL	1 µL	5 µL
Lipofectamine™ 3K Reagent used	0.15 and 0.3 µL	0.75 and 1.5 µL	3.75 and 7.5 µL
Incubate cells for 2–4 days at 37°C. Then, analyze transfected cells.			



地址： 北京市海淀区丰慧中路 7 号新材料创业大厦B座 327室. 邮编:100080