

脂质体转染试剂

Liposome SmArt2000 Transfection Reagent

产品信息

产品名称	产品编号	规格
脂质体转染试剂	DY20001	1mL

产品描述

SmArt2000 是一种新型的阳离子脂质体转染试剂。适合于将核酸(DNA 和 RNA)转染入真核细胞, 具有低细胞毒性; 对多种类型的细胞具有高转染效率; 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。适用于质粒 DNA 和 siRNA 的转染。

保存方式

4°C避光储存, 有效期 1 年。

本品避免冷冻。

使用方法

质粒 DNA 的转染

对大多数细胞来说, DNA(μg)与 SmArt2000(μl)的比例为 1:2 ~ 1:3。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. 以 24 孔板为例

贴壁细胞: 转染前一天, 用 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $0.5 \sim 2 \times 10^5$ 细胞, 使第二天能达到 70-90%密度。

悬浮细胞: 在准备 DNA-SmArt2000 复合物前, 用 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $4 \sim 8 \times 10^5$ 细胞即可。

2. 对每个转染样品, 进行以下操作

a. 在微量离心管里分别加入 50 μl Opti-MEM I Reduced Serum Medium 和 0.8 μg DNA 轻柔混匀, 制成 DNA 稀释液。

b. 在另一个微量离心管里分别加入 50 μl Opti-MEM I Reduced Serum Medium 和 2.0 μl SmArt2000 (注意用前先混匀), 轻柔混匀, 制成 SmArt2000 稀释液, 室温静置 5 分钟。

c. 将 DNA 稀释液和 SmArt2000 稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 20 分钟, 形成 DNA-SmArt2000 复合物。DNA-SmArt2000 复合物在室温下可稳定存在 6 小时。

3. 将 DNA-SmArt2000 复合物加入到接种好的细胞中, 将培养板轻轻地前后摇动, 使复合物分散均匀。

4. 在 37°C CO₂ 培养箱中培养 4 ~ 6 小时后更换培养基, 继续培养 18 ~ 48 小时。

5. 如果要筛选稳定细胞株, 则在转染 24 小时后将细胞按照 1:10 或更高的比例接种到新鲜培养基中, 第二天加入选择性培养基进行筛选。

质粒 DNA 转染的优化

为达到最高的转染效率和降低细胞毒性的影响，可以对 DNA 和 SmArt2000 的比例以及细胞密度进行优化，一般在 1:0.5 ~ 1:5 的范围内优化 DNA(μg)和 SmArt2000(μl)的比例。

不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及 SmArt2000 用量

细胞培养板	每孔面积	培养基用量		DNA 转染		siRNA	
		铺板培养基用量	稀释培养基用量	DNA	SmArt2000	RNA	SmArt2000
96-well	0.3cm ²	100uL	2×25 μl	0.2 μg	0.5 μl	5pmol	0.25 μl
24-well	2cm ²	500uL	2×50 μl	0.8 μg	2 μl	20pmol	1 μl
12-well	4cm ²	1mL	2×100 μl	1.6 μg	4 μl	40pmol	2 μl
6-well	10cm ²	2mL	2×250 μl	4 μg	10 μl	100pmol	5 μl
60mm 皿	20cm ²	5mL	2×0.5ml	8 μg	20 μl	200pmol	10 μl
100mm 皿	60cm ²	15mL	2×1.5ml	24 μg	60 μl	600pmol	30 μl

细胞转染注意事项 (建议进行预实验, 来摸索最佳条件)

1. 高纯度的 DNA 或 RNA 才能获得较高的转染效率。用于转染的质粒 DNA 必须无蛋白质，无内毒素，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。
2. 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. 转染时注意脂质体和质粒的用量，过量的话对细胞毒性大也容易失败。
4. 转染作用 6 小时一定记得要换含血清的培养基。
5. 培养基以及洗涤细胞和稀释用的培养基要无血清、无双抗。
6. 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。
7. 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。
8. 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。
9. 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。

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
转染效率	99%	99%	99%	>80%	~ 80%	~ 80%	~ 80%
细胞种类	THP-1	Hela	MCF-7	CHO-S	TS cell	HO1980	A549
转染效率	>50%	>80%	>80%	97%	>60%	>60%	>80%
细胞种类	MEF	BE(2)C	CHO	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a
转染效率	>50%	77%	96%	>50%	>80%	>80%	>70%
细胞种类	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929
转染效率	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%

本产品仅作参考用途