

Pmlipo3000转染试剂

货号：PMK0858。

储存方式：2-4℃避免冷冻，有效期12个月。

规格：0.75ml/1.5ml。

用途：适用于贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

产品简介：

Pmlipo3000转染试剂采用了脂质纳米颗粒(LipidNanoparticle)LNP递送技术，利用脂质形成纳米微粒将核酸包裹起来形成核酸脂质纳米粒，实现高转染性和可重复性的实验结果。针对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。Pmlipo3000转染试剂对大多数细胞毒性低并且性质温和，并且我们优化了转染过程的全部四个步骤，并结合脂质体纳米颗粒(LNP)递送技术，实现了较高的转染性能并可以降低所需的试剂量，同时尽可能降低对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。

产品特点：

- 1) 卓越的转染效率—针对较难转染细胞，可将效率提升2~10倍。
- 2) 作用温和，细胞毒性低—可改善细胞活力。
- 3) 高性价比高，同时实现更好的转染结果。

使用说明：（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！）

DNA的转染

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.按照下表使用Opti-MEM培养基稀释Pmlip3000-B试剂(建议同时用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Pmlipo3000 -A试剂，充分混匀。
- 4.在每管已稀释的Pmlipo3000-B试剂中加入稀释的DNA(1:1比例)。
- 5.室温孵育5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。

siRNA转染

转染siRNA至细胞中时，遵循如上所述的DNA实验方案，但在稀释siRNA时不要加入Pmlipo3000-A试剂。

试剂(以两孔为例)		96孔板	48孔板	24孔板	12孔板	6孔板
细胞数量		1~4 x10 ⁴	0.25~1 x10 ⁵	0.5~2 x10 ⁵	1~4 x10 ⁵	0.25~1 x10 ⁶
Opti-MEM培养基稀释 Pmlipo3000-B试剂	Opti-MEM培养基	5ul*2	12.5ul*2	25ul*2	50ul*2	125ul*2
	Pmlipo3000-B	0.15ul*2	0.375ul*2	0.75ul*2	1.5ul*2	3.75ul*2
Opti-MEM培养基稀释 DNA, 制备DNA预混 液, 添加Pmlipo3000- A试剂充分混匀。	Opti-MEM培养基	10ul	25ul	50ul	100ul	250ul
	DNA (0.5~5 µg/µL)	0.2ug	0.5ug	1ug	2ug	5ug
	Pmlipo3000-A试剂(2 µl/µg DNA)	0.4ul	1ul	2ul	4ul	10ul
Pmlipo3000-B试剂中 加入稀释的DNA (1:1 比例)	Pmlipo3000-A稀释的 DNA	5ul	12.5ul	25ul	50ul	125ul
	稀释的Pmlipo3000-B	5ul	12.5ul	25ul	50ul	125ul
室温孵育5分钟						
加入DNA-脂质体复合物至细胞中		10ul	25ul	50ul	100ul	250ul
37°C孵育细胞2~4天, 然后分析转染细胞。						

注意事项:

1. 细胞DNA/siRNA每次都不同, 建议每次转染一定要进行预实验摸索最佳条件, 尤其是转染试剂的最佳用量。
2. 转染试验失败需要找一下原因: 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。
3. 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)。
4. 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2×10⁶-4×10⁶细胞/ml(悬浮细胞)为宜, 最好在转染前4h换一次新鲜培养液。
5. 质粒的大小, 质量和用量对转染效率很关键。
6. 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。
7. 转染作用6小时一定记得要换含血清的培养基
8. 培养基以及洗涤细胞和稀释用的培养基要无血清、无双抗。
9. 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通透性因而不能在培养基中添加抗生素
10. 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!
11. 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。

产品说明书

12. 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。

13. 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。

14. 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。

15. 建议设置阳性对照和阴性对照。

相关产品：

PMK0015 快速蛋白凝胶染色液

PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated

PMK0016 通用抗体稀释液

PMK1700 PBST 缓冲液

PMK0019 30%丙烯酰胺(29:1)

PMK0563 Western 快速电泳缓冲液(10x)

PMK1013B SDS-PAGE凝胶快速配制试剂盒（彩色,通用型）



更多产品详情了解，请关注公众号：