

产品说明书

Pmlip3000转染试剂

货号: PMK0858

保存: 2-4°C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:

Pmlip3000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。其可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。Pmlip3000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。

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

操作步骤:

使用方法:(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Pmlip3000-A试剂,充分混匀。
- 4.在每管已稀释的Pmlip3000-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°C孵育细胞2-4天。然后分析转染细胞。

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controlsRNA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 $2 \times 10^6 - 4 \times 10^6$ 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。

相关产品：

PMK1300考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液

PMK053GAPDHmAb-HRPconjugated

PMK0312抗体稀释液

PMK1700PBST缓冲液

PMK1020IPTG溶液(50mg/ml)

PMK101030%丙烯酰胺(29:1)

PMK10705×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

PMK0012SDS-PAGE凝胶制备试剂盒



更多产品详情了解，请关注公众号

