

Lipofectamine® 3000 试剂实验方案

实验方案大纲

- 接种细胞，使其在转染时达到70-90%汇合度。
- 制备质粒DNA-脂质体复合物(推荐2种剂量的脂质体)。
- 加入DNA-脂质体复合物至细胞中。

转染量

| 组分 | 96孔 | 24孔 | 6孔 |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
| DNA/孔 | 100 ng | 500 ng | 2500 ng |
| P3000™试剂/孔 | 0.2 µL | 1 µL | 5 µL |
| Lipofectamine® 3000 试剂/孔 | 0.15 和0.3 µL | 0.75 和1.5 µL | 3.75 和7.5 µL |

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P3000™试剂(第3步)。

有限品质保

Life Technologies公司及/或其附属公司为其产品提供保证，请登录Life Technologies的网站www.lifetechnologies.com/termsandconditions，了解Life Technologies的一般销售条款和条件文本。如有任何疑问，请登录www.lifetechnologies.com/support，联系Life Technologies。

重要授权信息

这些产品均受到一项或多项限制使用标签许可的约束。使用这些产品，即表示您接受所有相应的限制使用标签许可的条款和细则。

免责声明

Life Technologies公司及/或其附属公司对本文的内容不作任何明示或暗示的保证，包括但不限于有关适销性、就任何特别目的之适用性或不侵权作出任何保证。在法律允许的范围内，不论在任何情况下，Life Technologies及/或其附属公司均不承担任何合同义务、民事侵权行为、保证承诺或因适用法律、与本文有关或其引起的特殊、偶发、间接、惩罚性、多重或继续损害，包括但不限于产品的使用。

© 2014 Life Technologies Corporation. 版权所有。

此处所述商标为Life Technologies公司及/或其附属公司或公司各所有人的财产。



如需支持，请登录visit www.lifetechnologies.com/support。

Lipofectamine® 3000 试剂实验方案

出版物编号：100022234 版本号：MAN0009872 Rev B.0

| 货号 | 规格： |
|----------|------------|
| L3000001 | 0.1 mL |
| L3000008 | 0.75 mL |
| L3000015 | 1.5 mL |
| L3000075 | 5 × 1.5 mL |
| L3000150 | 15 mL |



包装内容物



储存条件

- 4°C储存(切勿冷冻)



所需材料

- 质粒DNA (0.5-5 µg/µL储液)
- Opti-MEM®减血清培养基
- 微量离心管



时间

- 制备：10分钟
- 孵育：5分钟
- 最终孵育：1-3天



选择指南

- Lipofectamine®试剂
- 在网站上查看相关产品



产品描述

- Lipofectamine® 3000试剂采用了专利配方，可将核酸转染至各种真核细胞中，尤其是难以转染的细胞
- 在无血清培养基(如Opti-MEM®减血清培养基)中制备DNA-Lipofectamine® 3000复合物，直接将其加入含细胞培养基的细胞中(在血清/抗生素存在或不存在时均可)。
- 转染后无需去除转染复合物或者更换/添加培养基。
- Lipofectamine® 3000试剂用量各有不同。测试推荐的两种浓度的Lipofectamine® 3000试剂，以确定最佳用量，开始新的转染。



重要的指导原则



在线资源

- 请登录我们的产品页面，了解更多信息和实验方案。
- 如需支持，请登录
- www.lifetechnologies.com/support。

仅供研究使用。不得用于诊断。



Lipofectamine® 3000 试剂实验方案

Lipofectamine® 3000 转染试剂实验方案

按照下表转染细胞。使用指定体积的DNA和P3000™试剂以及对应的两种体积的Lipofectamine® 3000(优化时)。每种反应混合物体积为单个孔的体积，且考虑了移液差异。按比例计算其他孔的体积。

| 时间 | 步骤 |
|-------|--|
| 第0天 | 1  接种细胞至70-90%汇合度时转染 |
| | 2  使用Opti-MEM®培养基稀释Lipofectamine® 3000试剂(2管) — 充分混匀 <small>滴旋振荡2-3秒</small> |
| | 3  使用Opti-MEM®培养基稀释DNA，制备DNA预混液，然后添加P3000™试剂 — 充分混匀 |
| 第1天 | 4  在每管已稀释的Lipofectamine® 3000试剂中加入稀释的DNA (1:1比例) |
| | 5  孵育 |
| | 6  加入DNA-脂质体复合物至细胞中 |
| 第2-4天 | 7  显示/分析转染细胞 |

| 详细步骤(两种反应优化) | | | |
|--|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 组分 | 96孔 | 24孔 | 6孔 |
| 贴壁细胞 | $1-4 \times 10^4$ | $0.5-2 \times 10^5$ | $0.25-1 \times 10^6$ |
| Opti-MEM®培养基 | 5 $\mu\text{L} \times 2$ | 25 $\mu\text{L} \times 2$ | 125 $\mu\text{L} \times 2$ |
| Lipofectamine® 3000试剂 | 0.15和0.3 μL | 0.75和1.5 μL | 3.75和7.5 μL |
| Opti-MEM®培养基 | 10 μL | 50 μL | 250 μL |
| DNA (0.5-5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) | 0.2 μg | 1 μg | 5 μg |
| P3000™ 试剂(2 $\mu\text{L}/\mu\text{g}$ DNA) | 0.4 μL | 2 μL | 10 μL |
| 稀释的DNA (用P3000™试剂稀释) | 5 μL | 25 μL | 125 μL |
| 稀释的Lipofectamine® 3000试剂 | 5 μL | 25 μL | 125 μL |
| 室温孵育5分钟 | | | |
| 组分(每孔) | 96孔 | 24孔 | 6孔 |
| DNA-脂质体复合物 | 10 μL | 50 μL | 250 μL |
| DNA量 | 100 ng | 500 ng | 2500 ng |
| P3000™试剂 | 0.2 μL | 1 μL | 5 μL |
| Lipofectamine® 3000试剂用量 | 0.15和0.3 μL | 0.75和1.5 μL | 3.75和7.5 μL |
| 37°C孵育细胞2-4天。然后分析转染细胞。 | | | |

如需支持，请登录visit www.lifetechnologies.com/support。