

AFT Lipo9000 Transfection Reagent

产品名称	单位	货号
AFT Lipo9000 Transfection Reagent	0.25ml	AFT2020-01

【储存条件】 2-8°C储存，保质期两年。 **不可冷冻!!!**

【产品简介】

AFT Lipo9000 Transfection Reagent 是一种新型高效的阳离子聚合物。它可以与核酸（包括质粒、siRNA、寡聚核苷酸）相互作用形成一种复合物将核酸转运到真核细胞内，适用于大部分真核细胞的细胞转染，**对难转染细胞表现出更大优势**（效率显著高于目前主流转染试剂）。已经成功转染过的细胞系：HeLa、HEK293T、293T、HUVEC、HepG2、HEK293、CNE2、SW480、HEK293FT、HT29、Raw264.7、THP-1、HCT116。

【产品特性】

- 1) 细胞毒性低，转染后可不换液，也可在 4-6 小时后更换新鲜培养基。
- 2) 对高密度细胞保持高转染效率，在细胞密度 90% 以上仍具有很高的转染效率，细胞高密度转染有利于提升蛋白整体表达量，或增大检测信号，并减少转染试剂对细胞的伤害。
- 3) 血清不影响转染效率。可将转染复合物直接加入完全培养基中，可减少去除血清对细胞的损伤。
- 4) 用量少。通常情况下对于 24 孔板转染，每次用 1-2 μL ，1 mL 可做 500-1000 次转染；对于 6 孔板，每次用 4-8 μL ，1 mL 约可做 125-250 次转染。

【注意事项】

- 1) 可用于有血清培养基的转染，并且转染前后不需要换培养基。但是，制备转染复合物时要求用无血清培养基稀释 DNA 和转染试剂，因为血清会影响复合物的形成。
- 2) 高细胞密度仍具高转染效率，建议细胞密度大于 90%，有利获得更高的蛋白表达。
- 3) 铺板时可使用抗生素，但转染时应换液将抗生素移除。
- 4) 使用高纯度的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率，**内毒素是转染的大敌（建议用 AFT2017 质粒大提试剂盒）。**
- 5) 4 度保存，不可冷冻。避免反复或长时间开盖，避免脂质体氧化而影响转染效率。
- 6) 初次使用建议优化 DNA 和 AFT Lip9000 剂量以获得最佳转染效率。DNA 和转染试剂的比例，通常推荐是 1:2-1:3，例如使用 0.5 μg DNA 和 1-1.5 μL 转染试剂。通过调整 AFT Lip9000 转染试剂比例优化转染效率时，DNA(μg): AFT Lip9000 (μL) 比值在 1: 0.5-1: 5。

【使用方法】（以 24 孔板为例，其它参考表 1）

一、细胞准备

贴壁细胞: 转染前一天(12-24 小时), 胰酶消化细胞并计数, 按照每孔 $2-8 \times 10^5$ 个细胞的量进行铺板, 使其在转染时密度为 80-100%。

悬浮细胞: 转染当天, 配制 DNA 复合物之前, 24 孔板中细胞铺板, 每 500 μL 生长培养基中加入 $4-10 \times 10^5$ 细胞。

注意: a、铺板时可使用抗生素，但转染时候切记移除抗生素。

b、高细胞密度仍具高转染效率，建议细胞密度大于 90%。

二、转染复合物的配置：

- 1) 使用 50 μL 无血清培养基（如 DMEM 或 OPTI-MEM I 培养基）稀释 0.5 μg DNA，涡旋混匀。
- 2) 使用 50 μL 无血清培养基（如 DMEM 或 OPTI-MEM I 培养基）稀释 0.6-2.5 μL AFT Lip9000 转染试剂。转染试剂稀释后室温孵育 2-5 min（在 30 min 内同稀释的 DNA 混合，保温时间过长会降低活性）。

注意：a、如果 DMEM 作为脂质体核酸转染试剂的稀释液，必须在 5 min 内同稀释的 DNA 混合。

b、转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响，建议初次使用时设置梯度优化最佳使用量。

三、细胞转染：

- 1) 混合稀释的 DNA 和稀释的 AFT Lip9000（总体积 100 μL ），轻轻混匀，并在室温孵育 20 min。此时溶液可能会混浊，但不会影响转染。DNA-转染试剂复合物室温至少稳定保存 5h。

- 2) 将 100 μL DNA-AFT Lip9000 复合物滴加到 24 孔细胞板中（细胞板中培养基为 400 μL ），轻轻晃动细胞板混匀。

注：如需无血清条件转染，加入复合物前将含血清培养基替换为无血清培养基即可。

- 3) 37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱培养 18-48 h，直至进行转基因表达分析，无需去掉复合物或更换培养基。如需要，可在转染后 4-6 h 后更换生长培养基，不会降低转染效率。

【转染体系的调整】

不同的细胞培养板，AFT Lip9000、DNA、细胞和培养基的使用量会有所不同，具体请参考下表（表 1）。对于 96 孔板培养，不需要提前一天进行细胞铺板，可以直接在平板中制备复合物，然后将细胞悬浮液加入到复合物就可以，这样进一步减少转染时间。

表 1 不同培养容器转染试剂、核酸、培养基用量表

细胞板	Shared reagents		DNA 转染		RNAi 转染		RNA 转染	
	终体积	转染复合物	DNA	转染试剂	RNA	转染试剂	RNA	转染试剂
96-well	100 μL	2 \times 25 μL	0.1 μg	0.2-0.5 μL	5 pmol	0.25 μL	100ng	0.15-0.3 μL
24-well	500 μL	2 \times 50 μL	0.5 μg	0.6-2.5 μL	20 pmol	1.0 μL	500ng	0.75-1.5 μL
12-well	1 mL	2 \times 100 μL	1 μg	2-4.5 μL	40 pmol	2.0 μL	1000ng	1.5-3 μL
6-well	2 mL	2 \times 250 μL	2-4 μg	5-10 μL	100 pmol	5 μL	2500 ng	3.75-7.5 μL
60-mm	5 mL	2 \times 0.5 mL	4-8 μg	10-20 μL	200 pmol	10 μL	5000ng	7-15 μL
10-cm	15 mL	2 \times 1.5 mL	12-24 μg	30-60 μL	600 pmol	30 μL	15000ng	21-45 μL

该表仅供参考，**具体用量建议根据细胞类型及其它条件进行优化**，DNA(μg) : AFT Lip9000 (μL)比值建议在 1: 0.5-1: 5 间优化。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。