

文件编号: 100022234

出版物编号: MAN0009872

版本: C.0

**包装
内容物**

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

**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: 10–15 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

**重要的
指导原则**

- 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。

**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 thermofisher.com/support

**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)。

有限产品质保

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得侵权作出任何保证。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、保证承诺或因违背法令、与本文有关或其引起的特殊、偶发、间接、惩罚性、多重或继发损害, 包括但不限于产品的使用。

公司实体: Life Technologies | Carlsbad, CA 92008 USA | 美国免费电话: 1.800.955.6288

© 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. 版权所有。除特别说明外, 所有商标均为 Thermo Fisher Scientific 及其附属公司的财产。

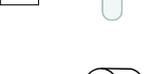
ThermoFisher
SCIENTIFIC

2016 年 2 月 10 日

如需支持, 请登录 thermofisher.com/support

Lipofectamine™ 3000 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	详细步骤 (两个反应优化)			
第 0 天	 <p>1 接种细胞至 70–90% 汇合度时转染</p>	组分	96 孔	24 孔	6 孔
	 <p>2 使用 Opti-MEM™ 培养基稀释 Lipofectamine™ 3000 试剂 (2 管)——充分混匀</p>	贴壁细胞	$1-4 \times 10^4$	$0.5-2 \times 10^5$	$0.25-1 \times 10^6$
第 1 天	 <p>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</p>	Opti-MEM™ 培养基	5 $\mu\text{L} \times 2$	25 $\mu\text{L} \times 2$	125 $\mu\text{L} \times 2$
	 <p>4 在每管已稀释的 Lipofectamine™ 3000 试剂中加入稀释的 DNA (1:1 比例)</p>	Lipofectamine™ 3000 试剂	0.15 和 0.3 μL	0.75 和 1.5 μL	3.75 和 7.5 μL
	 <p>5 孵育</p>	Opti-MEM™ 培养基	10 μL	50 μL	250 μL
	 <p>6 加入 DNA- 脂质复合物至细胞中</p>	DNA (0.5–5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	0.2 μg	1 μg	5 μg
	 <p>7 显示 / 分析转染细胞</p>	P3000™ 试剂 (2 $\mu\text{L}/\mu\text{g}$ DNA)	0.4 μL	2 μL	10 μL
第 2-4 天		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 10–15 分钟			
		加入 DNA- 脂质复合物至细胞中	组分 (每孔)	96 孔	24 孔
		DNA- 脂质复合物	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。			