Version 24.07

YALEPIC® DNA 转染试剂-LFD
YALEPIC® DNA Transfection Reagent-LFD

产品货号

产品货号	YJ52001-01	YJ52001-02
规格	1 ml	5×1 ml

产品保存及运输条件

常温运输，2 ~ 8℃ 保存一年，不可冷冻。

产品概述

YALEPIC® DNA Transfection Reagent-LFD 是一款高性能的 DNA 转染试剂，适用于多种易转染细胞及贴壁细胞的质粒 DNA 转染、瞬时转染。本产品兼具与 DNA 的高效复合及转染后快速释放的能力，确保优异的转染性能和极低的细胞毒性，转染复合物形成后，可直接加入完全培养基，不受血清和抗生素影响，转染前后无需更换培养基。具有不受血清影响、毒性低、稳定性好、操作便捷、重复性高等优点。

适用范围

1. 适用于转染分子量在 2000 ~ 6000 bp 的质粒，大质粒建议使用大质粒专用转染试剂。
2. 适用于多种贴壁细胞系，特别适用于各种常规细胞如 HeLa、293T、COS7、CHO 和 B16F10 等。

自备试剂及仪器

1. 质粒 DNA 提取：推荐无内毒素质粒大提试剂盒（YALEPIC® Endotoxin Free Plasmid DNA Maxi Isolation Kit，YALI #YC47013）；
2. 细胞接种：细胞培养基，FBS，胰酶，血球计数板，细胞培养板等；
3. 转染复合物的形成：Opti-MEM 或其它无血清、无双抗细胞培养基，EP 管等；
4. 其他：PBS，移液器，移液管，15 ml 离心管，T-75 细胞培养瓶，CO_2 细胞培养箱等。

实验准备及注意事项

1. 操作环境及操作过程中使用的试剂、耗材均需无菌，以免影响正常的转染效果。
2. 确保使用高质量、无内毒素、无菌、高纯度的质粒 DNA。质粒 DNA 的纯度符合实验要求（注：建议 OD_{260}/OD_{280} 值在 1.6 ~ 1.8 之间）。
3. 每次使用之前务必颠倒混匀试剂，观察试剂为澄清即可用。
4. 可通过改变细胞密度、基因浓度以及转染试剂用量对转染进行优化。
5. 转染时尽量选用同样的接种比例，以提高实验重复性。（注：不同细胞系的细胞密度不同，细胞密度会直接决定转染效率，建议在细胞融合度达到 60% ~ 70% 时进行转染）
6. 需根据具体细胞系选择最适培养条件。（多数哺乳动物细胞应在 37℃、5% CO_2 条件下培养。其他的一些细胞系，例如昆虫细胞，需要在不同的温度和 CO_2 浓度下进行培养）
7. 应避免转染复合物形成的反应体系中存在血清。
8. 转染实验全程缓慢轻柔操作，尤其在试剂稀释及混合的操作时，使用移液器轻轻吹打 10 ~ 20 次，确保充分混匀。

实验流程

1. 质粒 DNA 转染

以 24 孔板为例，步骤如下：

细胞接种：转染前 24 h 左右对细胞进行接种，接种密度约为 0.5 ~ 1.0 × 10^5 cells/well，过夜培养（12 ~ 24 h）

质粒稀释：

1) 在 1.5 ml 无菌 EP 管中加入 20 μl Opti-MEM，并添加适量 DNA（表 1），用移液器轻轻混匀。
2) 在 1.5 ml 无菌离心管中加 20 μl Opti-MEM 无血清培养基，并添加适量的 LFD（表 1），用移液器轻轻混匀,静置 5 min。

复合物制备：将 LFD-Opti-MEM 滴加至 DNA-Opti-MEM 中，用移液器轻轻混匀，室温静置 10 ~ 20 min 后可用于转染。注：形成的转染复合物溶液尽量在 30 min 内使用。

细胞转染：

1) 将转染复合物混合液滴加至培养基中，轻轻晃动培养皿，均匀分散。一般情况下无需更换培养基。
   注：如有特殊需要，可在转染开始之前更换新鲜的完全培养基，避免转染后培养细胞密度过大、营养不足导致细胞死亡。
2) 37℃ 过夜培养 18 ~ 48 h。一般情况下无需更换培养基。如转染后需要更换新鲜培养基，请在培养 6 ~ 12 h 后更换。
3) 收取细胞进行后续实验。

2. 质粒 DNA 转染优化

为达到高转染效率和低细胞毒性的最佳效果，可通过改变细胞密度、DNA 浓度以及转染试剂浓度对转染进行优化，保证细胞融合度在 60 ~ 80% 以上。转染 1 μg DNA 所使用的 LFD 的剂量可以在 1 ~ 5 μl（1 μl DNA : 1 ~ 5 μl LFD）之间进行调整以获得最佳的转染效率。

细胞培养板	单孔面积	培养基用量		DNA 转染	
		接种培养基用量	Opti-MEM	DNA	Transfection Reagent-LFD
96-well	0.3 cm^2	100 μl	2x10 μl	0.1 μg	0.2-0.5 μl
24-well	2.0 cm^2	500 μl	2x20 μl	0.4 μg	0.8-2 μl
12-well	4.0 cm^2	1 ml	2x40 μl	0.8 μg	1.6-4 μl
6-well	10 cm^2	2 ml	2x100 μl	2 μg	4-10 μl
60 mm	20 cm^2	5 ml	2x200 μl	4 μg	8-20 μl
10 cm	60 cm^2	10 ml	2x500 μl	12 μg	24-60 μl
T75	75 cm^2	13 ml	2x1 ml	15 μg	30-75 μl

表 1：质粒 DNA 转染优化推荐表

常见问题与解决方案

1. LFD 与 DNA 的比例不合适。

优化最佳比例：在 1 μl DNA : 1 ~ 5 μl LFD 范围内尝试，优化 DNA 的使用量。

2. LFD 与 DNA 未经无血清培养基稀释直接混合。

需分别在无血清培养基条件下按一定比例稀释后再进行混合孵育。

3. 转染时细胞密度不合适。

细胞密度过低导致细胞生长缓慢，对外来刺激变得较为敏感，使得转染毒性增高。细胞密度过高，会导致细胞发生接触抑制，加快细胞凋亡。细胞融合度达到 60% ~ 70% 时，转染可以取得较高的转染效率。可预实验优化细胞转染密度。

4. DNA 质量偏低（降解或内毒素）。

应使用高纯度、无菌、无内毒素的质粒 DNA。

5. 转染体系中存在抑制因素。

当转染体系中存在多聚阴离子聚合物时(例如：硫酸葡聚糖、肝素等)，转染将无法正常进行，因此应避免上述物质存在于细胞转染体系中。

6. 细胞状态差。

应尽量使用适度传代接种的细胞系，并尽量在平行实验时保持细胞传代次数的一致性，同时需避免细胞培养时间过长。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断