

# Celthy Univer Liposomal Transfection Reagent

## Celthy Univer 转染试剂

### 产品简介

Celthy Univer Liposomal Transfection Reagent 是一种多用途的脂质体转染试剂，适用于 DNA、RNA 和寡核苷酸的转染，对大多数真核细胞具有很高的转染效率，且不受血清影响，可完全替代 Lipo2000 转染试剂。

### 产品信息

货号	C130002S/C130002M
规格	0.5 mL/1 mL

### 储存条件

2~8°C 储存，有效期 1 年。禁止冷冻！

### 注意事项

1. 本试剂要求细胞铺板密度较高，以 90%~95% 为佳，有助于减少阳离子脂质体细胞毒性造成的影响。
2. 本试剂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。另外，要检测所用的无血清培养基与脂质体核酸转染试剂的相容性，已知 CD293, SFMII, VP-SFM 就不相容。
3. 转染时，培养基中不能添加抗生素。
4. 使用高纯度的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率，质粒中的内毒素是转染的大敌。
5. 阳离子脂质体应该在 4 度保存，要注意避免多次反复长时间开盖，因为可能会导致脂质体氧化而影响转染效率。
6. 初次使用应优化 DNA 浓度和阳离子脂质体试剂量以得到最大的转染效率。DNA 和转染试剂的比例，通常推荐是 1:2~1:3，比如 24 孔板内接种  $0.5\sim 2\times 10^5$  个细胞，使用 0.5  $\mu\text{g}$  DNA 和 1~1.5  $\mu\text{L}$  转染试剂。通过调整 DNA/脂质体核酸转染试剂比例优化转染效率，保证细胞密度大于 90%，DNA ( $\mu\text{g}$ ) : Celthy ( $\mu\text{L}$ ) 比值在 1:0.5~1:5。
7. 本产品仅用于科研。

### 使用说明

#### 1. 以 24 孔板转染为例

【注意】：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。  
贴壁细胞：转染前一天（20~24 小时），胰酶消化细胞并计数，细胞铺板（不含抗生素），使其在转染时密度为 90~95% ( $0.5\sim 2\times 10^5$  cells/well for a 24-well plate)。

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  $\mu\text{L}$  生长培养基（不含抗生素）中加入  $4\sim 8\times 10^5$  cells。

1) 按照以下体系配制 DNA-Celthy2000 脂质体转染试剂复合物：

- a. 对于每孔细胞，使用 50  $\mu\text{L}$  无血清培养基（如 OPTI-MEM I 培养基）稀释 0.5  $\mu\text{g}$  DNA。混匀。
- b. 对于每孔细胞，使用 50  $\mu\text{L}$  无血清培养基（如 OPTI-MEM I 培养基）稀释 0.6~2.5  $\mu\text{L}$  Celthy2000 脂质体转染试剂复合物。

Celthy Univer 脂质体转染试剂稀释后室温孵育 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】：即使脂质体核酸转染试剂使用 OPTI-MEM I 稀释，细胞也可以使用 DMEM 培养。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。

2) 混合稀释的 DNA 和稀释的脂质体核酸转染试剂（总体积 100  $\mu\text{L}$ ），轻轻混匀，并在室温（15~25 $^{\circ}\text{C}$ ）孵育 20 min，使得 DNA-脂质体复合物形成。此时溶液可能会混浊，但不会影响转染。

【注意】：DNA-脂质体复合物室温至少稳定保存 5 h。

3 直接将 100  $\mu\text{L}$  DNA-Celthy 脂质体复合物加入到细胞培养板每个孔中，摇动培养板，轻轻混匀。

【注意】：如果在无血清条件下转染，使用含血清的正常生长培养基进行细胞铺板。在加入复合物前移去生长培养基，替换为 500  $\mu\text{L}$  无血清培养基。

4) 37 $^{\circ}\text{C}$ ，5%  $\text{CO}_2$  培养箱培养 24~48 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。然而，可能有必要在 4~6 h 后更换生长培养基，不会降低转染活性。

稳转细胞株：转染 24 h 后，按照 1:10 或更高比例在细胞中加入新鲜生长培养基，转染 48 h 后加入筛选培养基。

悬浮细胞株：在细胞中加入 DNA-Celthy 脂质体复合物后，如果需要可以 4 h 后加入 PMA 和/或 PHA。对于 Jurkat 细胞，PHA 和 PMA 的终浓度分别为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  和 50  $\text{ng}/\text{mL}$ ，可以提高 CMV 启动子活性和基因表达。对于 K562 细胞，只加入 PMA 足以提高启动子活性。

## 2. 转染体系的调整

对于不同的细胞培养板，Celthy Univer 脂质体转染试剂、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了，这样进一步减少了转染时间。这种改进步骤已经过 293-H, 293-F, COS-7L 和 CHO 细胞的试验，同传统方法相比活性稍低。快捷的步骤和蛋白表达细胞系的高效转染使得脂质体核酸转染试剂非常适用于 96 孔板的高通量转染，比如 cDNA 文库的筛选和蛋白瞬时表达。

表 1 在不同的培养容器中转染，脂质体核酸转染试剂，核酸，细胞和培养基的用量表

培养容器	孔表面积 <sup>1</sup>	试剂用量		DNA transfection		RNAi transfection	
		培养基体积	转染复合物体积 <sup>2</sup>	DNA	脂质体转染试剂	DNA	脂质体转染试剂
96-well	0.3 $\text{cm}^2$	100 $\mu\text{L}$	$2\times 25$ $\mu\text{L}$	0.1 $\mu\text{g}$	0.2~0.5 $\mu\text{L}$	5 pmol	0.25 $\mu\text{L}$

24-well	2 cm <sup>2</sup>	500 μL	2×50 μL	0.5 μg	0.6-2.5 μL	20 pmol	1.0 μL
12-well	4 cm <sup>2</sup>	1 mL	2×100 μL	1 μg	2-4.5 μL	40 pmol	2.0 μL
6-well	10 cm <sup>2</sup>	2 mL	2×250 μL	2~4 μg	5~10 μL	100 pmol	5 μL
60-mm	20 cm <sup>2</sup>	5 mL	2×0.5 mL	4~8 μg	10~20 μL	200 pmol	10 μL
10-cm	60 cm <sup>2</sup>	15 mL	2×1.5 mL	12~24 μg	30~60 μL	600 pmol	30 μL

- 1) 不同厂商提供的细胞培养板表面积可能有所不同。
- 2) 稀释 DNA 或 RNAi 所用的培养基体积。

【注意】：该表使用量仅供参考，具体使用量还需根据细胞类型及其他实验条件进行优化。使用时 DNA (μg) : Celthy (μL) 比值保持在 1:0.5~1:5。