Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

V 1.0.0

GMTrans Liposomal Transfection Reagent

脂质体核酸转染试剂

产品信息：

产品编号	产品名称	规格
TG-10015-S	GMTrans Liposomal Transfection Reagent 脂质体核酸转染试剂	100 μL
TG-10015-2		1 mL
TG-10015-3		5 × 1mL

产品描述：

GMTrans 脂质体核酸转染试剂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。其独特的配方使其可直接加入培养基中，血清的存在不会影响转染效率，这样可以减少去除血清对细胞的损伤。转染后不需要除去核酸- GMTrans 复合物或更换新鲜培养基，也可在 4～6 小时后除去。

GMTrans 以无菌的液体形式提供。通常情况下对于 24 孔板转染，每次用 1.5 μL 左右，则 1 mL GMTrans 约可做 660 次转染；对于 6 孔板，每次用 6 μL 左右，则 1 mL GMTrans 约可做 160 次转染；

运输与保存：

冰袋（wet ice）运输。产品 4℃ 保存，一年有效。**不可冷冻！**

注意事项：

1. GMTrans 脂质体核酸转染试剂要求细胞铺板密度较高，以 60%-80%为佳，这有助于减少阳离子脂质体细胞毒性造成的影响，具体铺板密度需要预实验摸索；如果你研究的基因要求比较长的表达时间，比如细胞周期相关基因，或者细胞表面蛋白，最好选择细胞铺板密度要求较低的转染试剂，不适合用脂质体核酸转染试剂。
2. GMTrans 脂质体核酸转染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. 转染的时候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℃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 0.5-2×10^5 个细胞，使用 0.5 μg DNA 和 1-1.5 μL 转染试剂。通过调整 DNA/GMTrans 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（μg）: GMTrans（μL）比值在 1：0.5-1：5。

操作流程（以 24 孔板为例，其他培养板加样体积请参考表一）：

【注】：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进行优化最佳使用量。

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 70-95%（0.5-2×10^5 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 μL 生长培养基（不含抗生素）中加入 4-8 ×10^5 cells。

1. 按照以下体系配制 DNA-GMTrans 脂质体核酸转染试剂复合物：

1） 对于每孔细胞，使用 50 μL 无血清培养基（如 OPTI-MEM I培养基）稀释 0.5 μg DNA。混匀。

2） 对于每孔细胞，使用 50 μL 无血清培养基（如 OPTI-MEM I培养基）稀释 0.6-2.5 μL GMTrans 脂质体核酸转染试剂。

GMTrans 脂质体核酸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 μL），轻轻混匀，并在室温（15-25℃）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 μL DNA-GMTrans 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 μL 无血清培养基。

4. 37℃，5% 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。

转染体系的调整：

对于不同的细胞培养板，GMTrans 脂质体核酸转染试剂、DNA、细胞和培养基的使用量会有所不同，具体请参考下表（表一）。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。

表一 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

Culture vessel	Surf. area per well[1]	Shared reagents		DNA transfection		RNAi transfection	
		Vol. of plating medium	Vol. of dilution medium[2]	DNA	脂质体核酸转染试剂	RNA	脂质体核酸转染试剂
96-well	0.3 cm^2	100 µL	2×25 µL	0.1 µg	0.2-0.5 µL	5 pmol	0.25 µL
24-well	2 cm^2	500 µL	2×50 µL	0.5 µg	0.6-2.5 µL	20 pmol	1.0 µL
12-well	4 cm^2	1 mL	2×100 µL	1 µg	2-4.5 µL	40 pmol	2.0 µL
6-well	10 cm^2	2 mL	2×250 µL	2-4 µg	5-10 µL	100 pmol	5 µL
60-mm	20 cm^2	5 mL	2×0.5 mL	4-8 µg	10-20 µL	200 pmol	10 µL
10-cm	60 cm^2	15 mL	2×1.5 mL	12-24µg	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】：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）：GMTrans （µL）比值保持在 1:0.5-1:5。