

Lipo2000 Transfection Reagent

保存：2-4°C保存一年（避免冷冻）

产品说明

Lipo2000是一种新型的阳离子脂质体转染试剂。适合于将核酸(DNA 和 RNA)转染入真核细胞，具有低细胞毒性；对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率；转染时血清的存在不影响转染效率的优点。

适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

质粒DNA的转染

对大多数细胞来说，DNA(μg)与 Lipo2000(μl)的比例为 1:2~1:3。转染时高的细胞密度可以得到高的转染效率和表达水平，并能减少细胞毒性。

1. 以 24 孔板为例

贴壁细胞：转染前一天，用 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $0.5 \sim 2 \times 10^5$ 细胞，使之第二天能达到 70-90%汇合。

悬浮细胞：在准备 DNA-Lipo2000 复合物之前，用 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $4 \sim 8 \times 10^5$ 细胞即可。

2. 对每个转染样品，进行以下操作

- 在 eppendorf 管里分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 0.8 μg DNA 轻柔混匀，制成 DNA 稀释液。
- 在另一个 eppendorf 管里分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 2.0 μl Lipo2000 (注意用前先混匀)，轻柔混匀，制成 Lipo2000 稀释液，室温静置 5 分钟。
- 将 DNA 稀释液和 Lipo2000 稀释液混合，轻柔混匀，室温静置 20 分钟，形成 DNA-Lipo2000 复合物。DNA-Lipo2000 复合物在室温下可稳定存在 6 小时。

3. 将 DNA-Lipo2000 复合物加入到接种好的细胞中，将培养板轻轻地前后摇动，使复合物分散均匀。

4. 在37°C CO₂培养箱中培养4-6小时后更换培养基,继续培养18~48小时。
5. 如果要筛选稳定细胞株,则在转染24小时后将细胞按照1:10或更高的比例接种到新鲜培养基中,第二天加入选择性培养基进行筛选。

质粒DNA转染的优化为达到最高的转染效率和降低细胞毒性的影响,可以对DNA和Lipo2000的比例以及细胞密度进行优化,一般在1:0.5~1:5的范围内优化DNA(μg)和Lipo2000(μl)的比例。

不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及 *Lipo2000* 用量

细胞培养板	每孔面积	培养基用量		DNA转染		siRNA	
		铺板培养基用量	稀释培养基用量				
96-well	0.3cm ²	100ul	2×25 μl	0.2 μg	0.5 μl	5pmol	0.25 μl
24-well	2cm ²	500ul	2×50 μl	0.8 μg	2.0 μl	20pmol	1.0 μl
12-well	4cm ²	1ml	2×100 μl	1.6 μg	4.0 μl	40pmol	2.0 μl
6-well	10cm ²	2ml	2×250 μl	4.0 μg	10 μl	100pmol	5 μl
60-mm	20cm ²	5ml	2×0.5ml	8.0 μg	20 μl	200pmol	10 μl
10-cm	60cm ²	15ml	2×1.5ml	24 μg	60 μl	600pmol	30 μl

Lip 转染试剂用于不同细胞转染时用量参考 (以 96 孔板为例)

细胞型号	培养基	每孔细胞数	DNA的量	转染试剂量
293H	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
293FT	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
293E	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
293F	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
COS7	DMEM	1.5×10 ⁴	0.4 μg	0.5 μL
hela	DMEM	2×10 ⁴	0.3 μg	0.5 μL
Caco2	MEM	3.5×10 ⁴	0.3 μg	0.75 μL
BHK21	MEM	2×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
CHO-DG44	DMEM+HT+pro	2×10 ⁴	0.5 μg	0.5 μL
RAW264.7	DMEM	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
MCF7	MEM/NEAA+0.01mg/mL insulin + sodium pyruvat	2×10 ⁴	0.1 μg	0.25 μL
SW480	IMDM	3×10 ⁴	0.4 μg	0.5 μL
MDCK	DMEM	4×10 ⁴	0.6 μg	1 μL
CHO-K1	IMDM+Pro	3×10 ⁴	0.2 μg	0.5 μL
HepG2	DMEM	3×10 ⁴	0.5 μg	0.75 μL
A549	DMEM	2×10 ⁴	0.3 μg	0.5 μL
NIH/3T3	DMEM	1.5×10 ⁴	0.1 μg	0.75 μL
vero	DMEM	3×10 ⁴	0.3 μg	0.75 μL
sf9	SIM SF	5×10 ⁴	0.4 μg	0.75 μL

常见细胞的转染效率 (仅供参考, 实验条件不同转染效率会有差别)

细胞种类	HEK293	HCT 116	WRL - 68	HepG2	NIH/3T3	THP-1	Hela	MCF-7	293T	TS cell	HO1980	A549
转染效率	>80%	>80%	~80%	~80%	~80%	>50%	>80%	>80%	>80%	>60%	>60%	>80%
细胞种类	MEF	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929
转染效率	>50%	>50%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%