

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% |