

Lip2000 Transfection Reagent

产品编号	产品名称	规格
BL623A	Lip2000 Transfection Reagent	0.5ml
BL623B	Lip2000 Transfection Reagent	1ml

产品简介:

Lip2000 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 Lip2000(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 $0.5\text{-}2\times 10^5$ 细胞, 使之第二天能达到 70-90%汇合。 悬浮细胞: 在准备 DNA-Lip2000 复合物之前, 用 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $4\text{-}8\times 10^5$ 细胞即可。

2、对每个转染样品, 进行以下操作

(1) 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。

(2) 在另一个 eppendorf 管里分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 2.0 μl Lip2000 (注意用前先混匀), 轻柔混匀, 制成 Lip2000 稀释液, 室温静置 5 分钟。

(3) 将 DNA 稀释液和 Lip2000 稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 20 分钟, 形成 DNA-Lip2000 复合物。DNA-Lip2000 复合物在室温下可稳定存在 6 小时。

3、将 DNA-Lip2000 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 Lip2000 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 Lip2000 (μl) 的比例。

不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及 Lip2000 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	0.3 cm ²	100 μl	2 × 25 μl	0.2 μg	0.5 μl	5 pmol	0.25 μl
24-well	2 cm ²	500 μl	2 × 50 μl	0.8 μg	2.0 μl	20 pmol	1.0 μl
12-well	4 cm ²	1 ml	2 × 100 μl	1.6 μg	4.0 μl	40 pmol	2.0 μl
6-well	10 cm ²	2 ml	2 × 250 μl	4.0 μg	10 μl	100 pmol	5 μl
60-mm	20 cm ²	5 ml	2 × 0.5 ml	8.0 μg	20 μl	200 pmol	10 μl
10-cm	60 cm ²	15 ml	2 × 1.5 ml	24 μg	60 μl	600 pmol	30 μl

保存条件：

2-4 $^{\circ}\text{C}$ 保存一年（避免冷冻）。