

Lip2000 Transfection Reagent

Cat #:GL3413-0.75ML/GL3413-1.5ML

一、试剂盒组成、规格、储存：

成分	规格	储存
Lip2000	0.75ml	4℃
	1.5ml	

二、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。

三、储存条件：

2-4℃保存一年。（避免冷冻）

四、使用方法：

对于大多数细胞来说，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 500μl 不含抗生素的培养基接种 $0.5-2 \times 10^5$ 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 500μl 不含抗生素的培养基接种 $4-8 \times 10^5$ 细胞即可。

2、每个转染样品，进行以下操作

- 在 eppendorf 管里分别加 50μl 无血清培养基和 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 50μl 无血清培养基和 2μl 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。

c、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。注意：溶液可能会混浊，但不会影响转染。DNA-Lip2000 复合物在室温下可稳定存在 6 小时。

- 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。
- 在 37℃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。
- 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。

五、质粒 DNA 转染的优化：

以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	0.3cm ²	100ul	2×25μl	0.2μg	0.5μl	5pmol	0.25μl
24-well	2 cm ²	500ul	2×50μl	0.8μg	2.0μl	20pmol	1.0μl
12-well	4 cm ²	1 ml	2×100μl	1.6μg	4.0μl	40pmol	2.0μl
6-well	10cm ²	2 ml	2×250μl	4.0μg	10μl	100pmol	5 μl
60-mm	20cm ²	5 ml	2×0.5ml	8.0μg	20μl	200pmol	10 μl
10-cm	60cm ²	15ml	2×1.5ml	24 μg	60 μl	600pmol	30 μl

六、注意事项：

- 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 0.5ml 无血清培养基。
- Lip2000 稀释液在 30 分钟内同稀释的 DNA 混合。保温时间过长会降低活性。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。