

## Lip2000 Transfection Reagent

**产品货号:** PL0114

**产品规格:** 0.1ml、0.5ml、0.75ml、1ml

**保存条件:**

2-4°C 保存一年（避免冷冻）。

**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)转染至真核细胞，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( $\mu\text{g}$ )与 Lip2000( $\mu\text{l}$ )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。

**使用说明: (以 24 孔板为例)**

**1、细胞铺板:**

**贴壁细胞:** 转染前一天，用 500 $\mu\text{l}$  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 500 $\mu\text{l}$  不含抗生素的培养基接种  $4-8 \times 10^5$  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 $\mu\text{l}$  Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 0.8  $\mu\text{g}$  DNA，轻柔混匀，制成 DNA 稀释液。

(2) 在另一个 eppendorf 管里分别加入 50 $\mu\text{l}$  Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 2.0 $\mu\text{l}$  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°C CO<sub>2</sub> 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 <sup>2</sup>	100 ul	2 × 25 μl	0.2 μg	0.5 μl	5 pmol	0.25 μl
24-well	2 cm <sup>2</sup>	500 ul	2 × 50 μl	0.8 μg	2.0 μl	20 pmol	1.0 μl
12-well	4 cm <sup>2</sup>	1 ml	2 × 100 μl	1.6 μg	4.0 μl	40 pmol	2.0 μl
6-well	10 cm <sup>2</sup>	2 ml	2 × 250 μl	4.0 μg	10 μl	100 pmol	5 μl
60-mm	20 cm <sup>2</sup>	5 ml	2 × 0.5 ml	8.0 μg	20 μl	200 pmol	10 μl
10-cm	60 cm <sup>2</sup>	15 ml	2 × 1.5 ml	24 μg	60 μl	600 pmol	30 μl