###  LIP2000转染试剂

lip2000高效DNA TR是一种新型的阳离子脂质体转染试剂适合于将核酸DNA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。

lip2000高效DNA TR转染试剂对于常见的哺乳动物细胞具有非常高的转染效率、重复性好、操作简单、无明显的细胞毒性，并且对于贴壁细胞和悬浮细胞都适用。

lip2000高效DNA TR主要适用于DNA 等单一成分的细胞转染。

lip2000高效DNA TR转染过表达质粒后，通常24～48 h后达到较高的蛋白表达水平，并且很多情况下蛋白表达量在转染后48 h 显著高于转染后24 h。

lip2000高效DNA TR转染细胞时，基本不受细胞培养液中血清影响，即可以在血清存在的情况下进行细胞转染。但为了取得最佳的转染效果，推荐转染时使用不含抗生素培养液。转染后不必去除转染液，或者改变或添加培养基，但转染4～6 h 后可去除转染液。

### 产品信息

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 产品名称 | 货号 | 规格 |
| Lip2000转染试剂 | HZ-015 | 1.5ml |

### 使用方法

DNA转染

对大多数细胞来说，DNA (ug) 与lip2000高效DNA TR (ul) 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 ul不含抗生素的培养基接种0.5～2×105 细胞，使之第二天能达到80～90% 融合。

悬浮细胞：在准备DNA-TR LIP2000 DNA复合物之前，用500 ul不含抗生素的培养基接种4～8×105 细胞即可。

2. 对每个转染样品，进行以下操作

a. 在 eppendorf 管里分别加入50 ul Opti-MEM I ReLipced Serum Medium和0.8 ug DNA轻柔混匀（不能涡旋或离心），制成DNA稀释液。

b. 在另一个eppendorf管里分别加入50 ul Opti-MEM I ReLipced Serum Medium和2.0 ul lip2000高效DNA TR（注意用前先混匀），轻柔混匀，制成lip2000高效DNA TR 稀释液，室温静置5分钟。

c. 将DNA稀释液和lip2000高效DNA TR稀释液混合，轻柔混匀，室温静置20分钟，形成DNA-lip2000高效DNA TR复合物。DNA - lip2000高效DNA TR复合物在室温下可稳定存在6小时。

3. 将DNA-lip2000高效DNA TR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℃ 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。

优化DNA转染

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高效DNA TR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（ug）和lip2000高效DNA TR（ul） 的比例。

**不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及lip2000高效DNA TR用量**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **细胞培养板** | **每孔面积** | **培养基用量** | **DNA转染** |
| **铺板培养基** | **稀释培养基** | **DNA** | **转染试剂** |
| 96 well | 0.3 cm2 | 100 ul | 2×25 ul | 0.2 ug | 0.5 ul |
| 24 well | 2 cm2 | 500 ul | 2×50 ul | 0.8 ug | 2.0 ul |
| 12 well | 4 cm2 | 1 ml | 2×100 ul | 1.6 ug | 4.0 ul |
| 6 well | 10 cm2 | 2 ml | 2×250 ul | 4.0 ug | 10 ul |
| 60 mm | 20 cm2 | 5 ml | 2×0.5 ml | 8.0 ug | 20 ul |
| 10 cm | 60 cm2 | 15 ml | 2×1.5 ml | 24 ug | 60 ul |

**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 | 3×104 | 0.2 ug | 0.5 ul |
| 293FT | DMEM | 3×104 | 0.2 ug | 0.5 ul |
| 293E | DMEM | 3×104 | 0.2 ug | 0.5 ul |
| 293F | DMEM | 3×104 | 0.2 ug | 0.5 ul |
| COS7 | DMEM | 1.5×104 | 0.4 ug | 0.5 ul |
| hela | DMEM | 2×104 | 0.3 ug | 0.5 ul |
| Caco2 | MEM | 3.5×104 | 0.3 ug | 0.75 ul |
| BHK21 | MEM | 2×104 | 0.2 ug | 0.5 ul |
| CHO-DG44 | DMEM+HT+pro | 2×104 | 0.5 ug | 0.5 ul |
| RAW264.7 | DMEM | 3×104 | 0.2 ug | 0.5 ul |

### 注意事项

1.使用高纯度的DNA有助于获得较高的转染效率。

2.转染前细胞必须处于良好的生长状态。

3.需自备不含抗生素的无血清培养液或Opti-MEM®培养液或普通的DMEM 培养液。

4.lip 2000 高效 DNA TR转染试剂不能vortex 或离心，宜缓慢晃动混匀。

5.转染试剂使用后请立即盖好盖子，避免长时间暴露空气中。

6.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。