

Meilunbio®脂质体基因转染试剂(可取代 Lipo2000)

产品编号: MA0672 规格: 1.5ML/只

产品内容

产品组成	MA0672
Meilunbio®脂质体基因转染试剂(可取代 Lipo2000)	1.5ML/只
说明书	1 份

产品简介

Meilunbio®脂质体基因转染试剂是一种新型的阳离子脂质体转染试剂，可替代 Lipo2000，且与 Lipo2000 比其毒性更低，转染效率更高。

本产品适合于将核酸（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。

本产品适用范围：贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

使用方法—质粒DNA的转染

以下步骤以 24 孔板为例，对于其它培养板或培养器皿，各种试剂的用量可以参考附表 1 进行换算。

对大多数细胞来说，DNA(μg) 与 转染试剂(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. 接种细胞

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，使之第二天汇合度能达到 70-90%。

悬浮细胞：在准备 DNA-转染试剂复合物之前，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

a. 在 1.5ml 无菌离心管中分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 0.8 μg DNA 轻柔混匀，制成 DNA 稀释液。

b. 在另一个 1.5ml 无菌离心管中分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 2.0 μl 转染试剂（注意用前先混匀），轻柔混匀，制成转染试剂稀释液，室温静置 5 分钟。

c. 将 DNA 稀释液和转染试剂稀释液混合，轻柔混匀，室温静置 20 分钟，形成 DNA-转染试剂复合物。DNA-转染试剂复合物在室温下可稳定保存 6 小时。

3. 将 DNA-转染试剂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。

5. 转染后续处理：

a. 对于基因表达，再培养 18-48 小时后即可检测转染效果，如转染带 GFP 或者其他荧光基因的表达载体，可用荧光显微镜观测细胞转染效率。

b. 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。

保存条件

2-4°C 保存，有效期一年，避免冷冻。

注意事项

1. 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 和转染试剂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。

2. 通常 DNA-转染试剂复合物和细胞一起孵育 6 小时已经足够产生较高的转染效率。大多数细胞在本产品转染后长达 72 小时未见明显细胞毒性。但转染后 6 小时更换新鲜培养基对于一些生长非常迅速的细胞有助于提高转染效率；对于一些易于转染的细胞如 HEK293T 细胞，换液可视细胞生长状况而定，无需为提高转染效率而换液。

3. 使用高纯度的 DNA (A260/280 比值越接近 1.8 越好) 有助于获得较高的转染效率。

4. 转染前细胞需处于良好的生长状态。

5. 本产品在不同细胞上的转染效率不同，转染试剂的添加量需要摸索，具体请参考附表 2 和附表 3。

6. 本产品为无菌包装，无需过滤，请注意无菌取用。

7. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

附表 1. 不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及转染试剂用量

细胞培养板	生长面积	培养基用量		DNA 转染		siRNA 转染	
		铺板培养基用量	稀释培养基用量	DNA 量	转染试剂量	siRNA 量	转染试剂量
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	2×50μL	0.8 μg	2.0 μL	20 pmol	1.0 μL
12-well	4.5 cm ²	1 mL	2×100μL	1.6 μg	4.0 μL	40 pmol	2.0 μL
6-well	9.6 cm ²	2 mL	2×250μL	4.0 μg	10 μL	100 pmol	5 μL
6-cm	21 cm ²	5 mL	2×0.5mL	8.0 μg	20 μL	200 pmol	10 μL
10-cm	55 cm ²	15 mL	2×1.5mL	24 μg	60 μL	600 pmol	30 μL

附表 2. 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	293	HCT116	WRL-68	HepG2	NIH/3T3	THP-1	Hela	MCF7	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	CHO-K1	Hep3B	C2C12	Neuro2a	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929
转染效率	>50%	>50%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%

附表 3. Meilunbio®脂质体基因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	0.2μg	0.5μL
293FT	DMEM	3×10 ⁴	0.2μg	0.5μL
293E	DMEM	3×10 ⁴	0.2μg	0.5μL
293F	DMEM	3×10 ⁴	0.2μg	0.5μL
COS7	DMEM	1.5×10 ⁴	0.4μg	0.5μL
hela	DMEM	2×10 ⁴	0.3μg	0.5μL
Caco2	MEM	3.5×10 ⁴	0.3μg	0.75μL
BHK21	MEM	2×10 ⁴	0.2μg	0.5μL
CHO-DG44	DMEM+HT+pro	2×10 ⁴	0.5μg	0.5μL
RAW264.7	DMEM	3×10 ⁴	0.2μg	0.5μL
MCF7	MEM/NEAA+0.01mg/mL insulin + sodium pyruvate	2×10 ⁴	0.1μg	0.25μL
SW480	IMDM	3×10 ⁴	0.4μg	0.5μL
MDCK	DMEM	4×10 ⁴	0.6μg	1μL
CHO-K1	IMDM+Pro	3×10 ⁴	0.2μg	0.5μL
HepG2	DMEM	3×10 ⁴	0.5μg	0.75μL
A549	DMEM	2×10 ⁴	0.3μg	0.5μL
NIH/3T3	DMEM	1.5×10 ⁴	0.1μg	0.75μL
Vero	DMEM	3×10 ⁴	0.3μg	0.75μL
sf9	SIM SF	5×10 ⁴	0.4μg	0.75μL