Meilunbio®脂质体基因转染试剂(可取代 Lipo2000)

产品编号：MA0672　　规格：0.25mL/1.5mL/1.5mL×4

产品内容

产品组成	MA0672-T	MA0672	MA0672-2
Meilunbio®脂质体基因转染试剂(可取代 Lipo2000)	0.25mL	1.5mL	1.5mL×4
说明书	1 份	1 份	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 ，其 DNA 转染效率不弱于、甚至优于 Lipo2000，并且毒性更低，可替代 Lipo2000 使用。

本产品适合于将DNA转染入真核细胞，在合适的转染试剂/DNA比例条件下，其细胞毒性极低；转染时血清的存在不影响转染效果。

本产品适用范围：大多数贴壁细胞和悬浮细胞（哺乳动物细胞系）的转染。

本产品为无菌溶液。一般条件下24孔板转染，每次使用约2μL，则1.5mL规格可做约750次转染。

使用说明

以24孔板为例，其他培养器皿加样体积请参考表1。所有用量和体积均按每孔给出。对大多数细胞来说，DNA (μg)与转染试剂 (μL)的比例为1:2~1:6。转染时，细胞密度以70~80%为宜，细胞密度过低会抑制细胞生长，而细胞密度过高会因细胞接触抑制而降低其增殖率而降低DNA表达效率。

（一）细胞准备

贴壁细胞：转染前12~16h，用500μL不含抗生素的生长培养基接种0.5~2×10^5个细胞，使其在第二天汇合度能达到70~80%。

悬浮细胞：转染当天，在准备DNA-转染试剂复合物之前，用500μL不含抗生素的培养基接种4~8×10^5个细胞即可。

（二）细胞转染

1. 转染复合物准备：对于每孔转染样品

①A液：50μL Optimal-MEM（美仑货号：PWL041或PWL042）+0.8μg DNA；

②B液：50μL Optimal-MEM（美仑货号：PWL041或PWL042）+2μL转染试剂，混匀后室温放置5min；

注：在25min内继续进行下一步骤。

③C液：将A液加入到B液中，并轻柔吹打10~15下混匀，室温静置20min，形成DNA-转染试剂复合物即C液（溶液混合后可能会看上去浑浊）。

注：C液在室温下可稳定保存6小时。

2. （可选）半量换液：可根据实际需求进行半量换液。

3. 然后将C液100μL加入到接种好的细胞孔内，培养板轻轻地前后摇动，使复合物分散均匀。

4. 将孔板放入到37℃，5% CO_2培养箱中培养4~6小时，更换正常培养基，继续培养。

（三）转染后续处理

1. 对于基因表达，继续培养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，或用流式细胞仪、酶标仪进行荧光定量检测。

2. 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

2~8℃保存，避免冷冻，自生产之日起 12 个月有效。

注意事项

1、质粒 DNA 转染的优化：为达到最好的转染效果和降低转染试剂细胞毒性的影响，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1:1~1:6的范围内优化 DNA (μg) 和转染试剂 (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HEK 293T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、根据实验需求，提前计算好需用的总DNA量和转染试剂用量，大体积地制备，可以减少误差。

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，请穿实验服并戴一次性手套操作。

美仑相关产品推荐

PWL041	Optimal-MEM 减血清培养基,用于细胞转染	100mL/500mL
PWL042	Optimal-MEM 减血清培养基不含酚红,用于细胞转染	100mL/500mL
MA0518	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T/1000T
MA0519	Firefly-Glo 萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T/1000T/5000T×2
PWL110	Bio-FIREFLYGLO 萤光素酶报告基因检测试剂盒	10mL/100mL/10mL×10
MA0520	Firefly&Renilla-Light 双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T/1000T
MA0521	Nano-Light 萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T/1000T
PWL208	Bio-Nano 萤光素酶报告基因检测试剂盒	10mL/100mL/10mL×10/100mL×10
PWL209	Bio-Nano&Firefly 双萤光素酶报告基因检测试剂盒	10mL/100mL/10mL×10/100mL×10
PWL213	Bright-FIREFLYGLO 萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T/1000T/1000T×10
MA0210	潮霉素 B 溶液(50MG/ML,inPBS)	2mL/20mL
MA0318	嘌呤霉素无菌溶液(10mg/ml)	1mL
MA0321	G418(Geneticin)无菌溶液（50mg/ml）	20mL
MB1039	Bleomycin sulfate	10mg/25mg/100mg
MB2506	Blasticidin(灭瘟素 S 盐酸盐);杀稻瘟菌素 S	10mg

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

培养器皿	每孔表面积	培养基用量		DNA 转染		siRNA 转染	
		铺板培养基体积	稀释培养基体积	DNA	转染试剂	RNA	转染试剂
96 孔	0.3cm²	100μL	2x25μL	0.2μg	0.5μL	5pmol	0.25μL
24 孔	2cm²	500μL	2x50μL	0.8μg	2μL	20pmol	1μL
12 孔	4cm²	1mL	2x100μL	1.6μg	4μL	40pmol	2μL
6 孔	10cm²	2mL	2x250μL	4.0μg	10μL	100pmol	5μL
60mm	20cm²	5mL	2x0.5mL	8.0μg	20μL	200pmol	10μL
10cm	60cm²	15mL	2x1.5mL	24μg	60μL	600pmol	30μL

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	HEK293	HCT116	WRL-68	HepG2	NIH/3T3	THP-1	Hela	MCF7	HEK293T	TS cell	Hep2C	A549
转染效率	>90%	>80%	~80%	~80%	~80%	>50%	>80%	>80%	>90%	>60%	>80%	>80%

细胞种类	HUVEC	CHO-K1	Hep3B	C2C12	Neuro2a	MEF	MDCK	B50	WEHI	HT-1080	Calu1	L929
转染效率	>80%	>50%	>80%	>80%	>70%	>50%	>80%	>70%	>60%	>80%	>70%	>70%

附表3. 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
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	F-12K	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
LNCaP	RPMI1640	3×10^4	0.3μg	0.75μL

大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用