

Lipo2K Transfection Reagent

产品描述

Lipo2K转染试剂(Lipo2K Transfection Reagent)是一种广泛应用于细胞转染的阳离子脂质体转染试剂,可以将DNA或RNA(如siRNA/mRNA)转染进各种类型的细胞(贴壁或悬浮)中,包括一些难以转染的细胞。本转染试剂的使用方法与常用的Lipofectamine® 2000 Reagent基本一致,并且经过测试,本转染试剂的转染效率与Lipofectamine® 2000 Reagent相当或者略高。

本转染试剂具有转染效率高、操作简单、重复性好且无明显的细胞毒性等优点。此外,本转染试剂不仅适用于单一质粒或siRNA的转染,也适用于多个质粒或者质粒与siRNA的组合转染。本转染试剂转染质粒后,一般24-48 h后可进行表达检测;转染siRNA后通常3-5天后进行检测会比较理想。

本转染试剂转染细胞时,血清或抗生索的存在基本不影响转染效率。但是为了实现最佳的转染效果,推荐转染时使用不含抗生索的含血清的培养基。

组分和储存条件

Components	K2704-0.75 mL	K2704-1.5 mL
Lipo2K Transfection Reagent	0.75 mL	1.5 mL

Store the reagent at 4°C, stable for 1 year. Do not freeze.

实验操作

本实验操作以24孔板为例,其他孔板转染各组分用量请参考附表一。

1. 细胞培养:

- 1) 贴壁细胞:转染前一天,每孔用500 μ L不含抗生索的培养基接种 $1-2 \times 10^5$ 个细胞,使得第二天转染时细胞汇合度达到70-80%。
- 2) 悬浮细胞:转染当天,配制DNA复合物之前,每孔用500 μ L不含抗生索的培养基接种 $4-8 \times 10^5$ 个细胞。

2. 转染前准备:

- 1) DNA复合物配制:对于每孔,将1 μ g DNA稀释于50 μ L无血清培养基(如Opti-MEM)中并轻轻混匀,即为DNA复合物。
- 2) Lipo2K稀释液配制:对于每孔,将2 μ L Lipo2K稀释于50 μ L无血清培养基(如Opti-MEM)中并轻轻混匀,即为Lipo2K稀释液。室温静置5 min。

***Note:** Lipo2K 用前需要先混匀，可以缓慢晃动以混匀，不可以直接涡旋。

3) DNA-Lipo2K 复合物制备：将DNA复合物和Lipo2K稀释液混合，轻轻混匀，室温静置20 min，即为DNA-Lipo2K复合物。该复合物可在室温下稳定存在6 h。

3. 细胞转染：将DNA-Lipo2K复合物加到准备好的细胞中，轻轻摇动孔板使复合物分散均匀。细胞培养箱中培养4-6 h后可更换细胞培养基，随后继续培养18-48 h。

4. 检测：继续培养24-48 h后，即可用适当方式检测转染效果，如荧光检测、Western Blot、RT-qPCR、ELISA和报告基因等实验。或者加入合适的筛选抗生素（如G418）进行稳转株的筛选。

5. 附表一：下表为推荐的不同细胞孔板转染实验时各组分的用量。

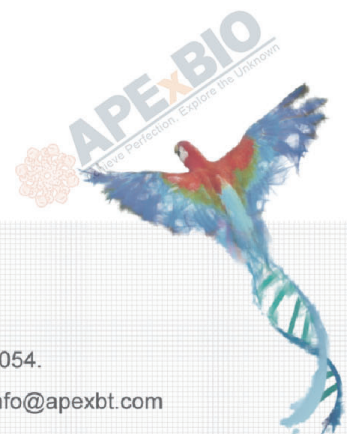
培养容器	培养基		DNA 转染		siRNA 转染	
	铺板培养基体积	稀释培养基体积	DNA	Lipo2K	siRNA	Lipo2K
96 孔板	100 μ L	2x25 μ L	0.2 μ g	0.5 μ L	5 pmol	0.25 μ L
24 孔板	500 μ L	2x50 μ L	0.8 μ g	2.0 μ L	20 pmol	1.0 μ L
12 孔板	1 mL	2x100 μ L	1.6 μ g	4.0 μ L	40 pmol	2.0 μ L
6 孔板	2 mL	2x250 μ L	4.0 μ g	10 μ L	100 pmol	5.0 μ L
6 cm 板	5 mL	2x0.5 mL	8.0 μ g	20 μ L	200 pmol	10 μ L
10 cm 板	15 mL	2x1.5 mL	24 μ g	60 μ L	600 pmol	30 μ L

***Note:** 本表使用量仅供参考，具体使用量可以根据细胞类型进行优化。对大多数细胞来说，一般DNA (μ g) 和Lipo2K (μ L) 的比例在1:2-1:3之间时可以达到较好的转染效率和较低的细胞毒性。此外也可以在1:0.5-1:5的范围内优化DNA (μ g) 和Lipo2K (μ L) 的比例以获得最佳的转染效率。

■ 注意事项

1. 细胞的种类和状态对于转染效率影响非常大。一般推荐使用处于对数生长期且生长状态良好的细胞进行转染。对于贴壁细胞，需要保证在贴壁后12-24 h再进行转染，否则细胞很容易脱壁。对于悬浮细胞，建议最好在转染前4 h换一次液。
2. 转染质粒的大小、质量和用量对转染效率也非常关键。高纯度的质粒可以获得较高的转染效率。质粒应该无蛋白质、RNA和其他化学物质的污染，其OD_{260/280}的值应在1.8-1.9范围内。
3. 转染时转染试剂的用量也需要注意，过量的话也可能因为细胞毒性过大而使得转染效率降低。
4. 本转染试剂可用于有血清培养基的转染，但是制备DNA-Lipo2K复合物的时候需要使用无血清培养基稀释DNA和Lipo2K，这是因为血清会影响复合物的形成。
5. 转染4-6 h后需要更换成含血清的培养基。
6. 本转染试剂使用后需要立刻盖好盖子，因为长时间暴露在空气中会造成脂质体的氧化，影响转染效率。
7. 本转染试剂不可冷冻、涡旋或离心，同时使用前需要缓慢晃动以混匀。
8. 转染的时候推荐不要使用抗生素。

9. 一般转染24-48 h后，目的基因可在细胞内表达，此时可选用不同实验检测目的基因的表达。
10. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
11. 本产品仅限于科研使用，不得用于临床诊断或治疗。



APEX BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com