



Sino-lipo2000 Transfection Reagent

产品货号：TR001

产品介绍：

本转染试剂可适用于多种真核细胞。DNA-Lipo 2000 转染复合物由无血清培养基制备，然后直接加入到细胞中，转染后无需换液。转染的效果取决于细胞种类和传代数。

操作方法：

1. 贴壁细胞：转染前一天，用不含抗生素的培养基接种细胞，使之第二天能达到 70-90%汇合。

悬浮细胞：在准备 DNA-Lipo2000 复合物之前，用 500 μL 不含抗生素的培养基接种 $4 \sim 8 \times 10^5$ 细胞即可（96 孔板为例）。

2. Transfect cells according to the following chart. Volumes are given on a per-well basis. Each reaction mix is sufficient for triplicate (96-well), duplicate (24-well), and single well (6-well) transfections, and accounts for pipetting variations. Adjust the amounts of components according to your tissue culture format.

Timeline		Steps	Procedure Details			
Day 0	1	Seed cells to be 70~90% confluent at transfection	Component	96-well	24-well	6-well
	2	Dilute four amounts of Lipo2000 Reagent in Opti-MEM® Medium	Adherent cells	$1-4 \times 10^4$	$0.5-2 \times 10^5$	$0.25-1 \times 10^6$
	3	Dilute DNA in Opti-MEM® Medium	Opti-MEM® Medium	25 $\mu\text{L} \times 4$	50 $\mu\text{L} \times 4$	150 $\mu\text{L} \times 4$
Day 1	4	Add diluted DNA to diluted Lipo 2000 Reagent (1:1 ratio)	Lipo2000 Reagent	① 1, 1.5, 2, 2.5 μL	② 2, 3, 4, 5 μL	③ 6, 9, 12, 15 μL
	5	Incubate	Opti-MEM® Medium	125 μL	250 μL	700 μL
	6	Add DNA-lipid complex to cells	DNA (0.5-5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	2.5 μg	5 μg	14 μg
	7	Visualize/analyze transfected cells	Diluted DNA Total	25 μL	50 μL	150 μL
			Diluted Lipo 2000 Reagent	25 μL	50 μL	150 μL
			Incubate for 5 minutes at room temperature.			
			Component	96-well	24-well	6-well
			DNA-lipid complex per well	10 μL	50 μL	250 μL
			Final DNA used per well	100 ng	500 ng	2500 ng
			Final Lipo 2000 Reagent used per well	0.2-0.5 μL	1.0-2.5 μL	5.0-12.5 μL
			Incubate cells for 1-3 days at 37°C. Then analyze transfected cells.			

注意事项：

1.

Component	96-well	24-well	6-well
Final DNA per well	100 ng	500 ng	2500 ng
Final Lipo2000 Reagent per well	0.2-0.5 μL	1.0-2.5 μL	5.0-12.5 μL

2. 质粒 DNA 与 siRNA 共转染时，每 1 μg DNA 对应 30pmol (~0.6 μg) siRNA.

3. 转染 mRNA，以 24 孔板为例，每孔加 0.5-1 μg mRNA

4. 对大多数细胞来说，DNA(μg)与 Lipo2000 (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。

实例：（24 孔板转染）

1.转染复合物的制备

- a.在 EP 管里分别加入 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 EP 管里分别加入 50μl Opti-MEMI ReLipced Serum Medium 和 2.0 μl Lipo2000 (注意用前先混匀)，轻柔混匀，制成 Lipo2000 稀释液，室温静置 5 分钟。
- c.将 a、b 管混合，轻柔混匀，室温静置 20 分钟，形成 DNA-Lipo2000 复合物。DNA-Lipo2000 复合物在室温下可稳定存在 6 小时。
- 2.将 DNA-Lipo2000 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。
- 3.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。
- 4.如要筛选稳定细胞株，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：

4℃保存，切勿冷冻。

不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及 Lipo2000 用量

细胞培养板	每孔面积	培养基用量		DNA 转染		siRA	
		铺板培养基用量	稀释培养基用量				
96-well	0.3 cm ²	100 uL	2 × 25 μl	0.2 μg	0.5 μl	5 pmol	0.25 μl
24-well	2 cm ²	500 uL	2 ×50 μl	0.8 μg	2.0 μl	20 pmol	1.0 μl
12-well	4 cm ²	1 mL	2 ×100 μl	1.6 μg	4.0 μl	40 pmol	2.0 μl
6-well	10 cm ²	2 mL	2 ×250 μl	4.0 μg	10 μl	100 pmol	5 μl
60-mm	20 cm ²	5 mL	2 × 0.5 ml	8.0 μg	20 μl	200 pmol	10 μl
10-cm	60 cm ²	15 mL	2 × 1.5 ml	24 μg	60 μl	600 pmol	30 μl

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 Lipo2000 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 Lipo2000 (μl) 的比例。



相伴科研·见证成长



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 pyruvat	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

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	MCF-7	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	Chok1	Hep3B	C2C12	Neuro-2a	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929
转染效率	>50%	>50%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%