

Lipo293F™转染试剂

产品编号	产品名称	包装
C0518-1ml	Lipo293F™转染试剂	1ml
C0518-10ml	Lipo293F™转染试剂	10ml
C0518-100ml	Lipo293F™转染试剂	100ml

产品简介:

- 碧云天生产的Lipo293F™转染试剂(Lipo293F™ Transfection Reagent)是一种非常高效的基于阳离子脂质体的新型转染试剂，专门适用于悬浮培养的HEK293细胞，如Freestyle™ 293-F等，进行质粒转染和重组蛋白大量表达。本产品与Thermo公司的293fectin™ Transfection Reagent和Merck公司的293-Free™ Transfection Reagent的用途和使用效果基本一致，与Thermo公司的FreeStyle™ MAX Reagent相比，用于悬浮培养的293细胞时效果基本一致。
- Lipo293F™转染试剂对Freestyle™ 293-F细胞的转染效率非常高(约85%)，同时细胞毒性极低、重复性好、操作简单、转染后无需更换培养液。悬浮培养293系列细胞转染试剂的比较和选择请参考：<http://www.beyotime.com/support/lipo293F.htm>。
- Lipo293F™转染试剂也同样适用于293系列贴壁细胞的转染，但转染293系列贴壁细胞时，推荐使用性价比更高的Lipo293™。
- Lipo293F™转染试剂转染时血清的存在不会影响转染效率，这样可以减少避免很多阳离子脂质体因为需要在转染时去除血清而对细胞造成的损伤。
- Lipo293F™转染试剂毒性极低，转染后无需更换培养液，一方面细胞的良好生长状态保证了目的蛋白的大量表达，另一方面又减少了操作步骤并节省了培养液。
- Lipo293F™转染试剂转染Freestyle™ 293-F细胞目的蛋白表达质粒后，通常在48-72小时后达到比较理想的蛋白表达水平。
- Lipo293F™转染试剂的转染效率可以通过转染表达EGFP等荧光蛋白的质粒进行快速鉴定。
- Lipo293F™转染试剂转染Freestyle™ 293-F细胞效果请参考图1。

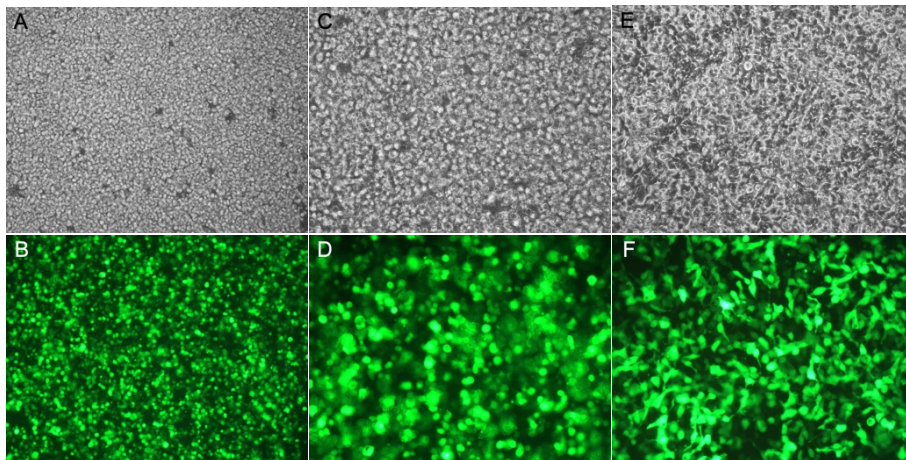


图1. Lipo293F™转染试剂用EGFP表达质粒转染Freestyle™ 293-F细胞的效果图。A和B，转染48小时后，10倍物镜下Freestyle™ 293-F细胞悬浮状态(无血清培养基中不加血清)的明场照片(A)和荧光照片(B)。C和D，转染48小时后，20倍物镜下Freestyle™ 293-F细胞悬浮状态(无血清培养基中不加血清)的明场照片(C)和荧光照片(D)。E和F，转染48小时后，20倍物镜下Freestyle™ 293-F细胞贴壁状态(无血清培养基中加10%血清)的明场照片(E)和荧光照片(F)。

- 每毫升Lipo293F™转染试剂可以转染500毫升悬浮培养的293-F细胞。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0518-1ml	Lipo293F™转染试剂	1ml
C0518-10ml	Lipo293F™转染试剂	10ml
C0518-100ml	Lipo293F™转染试剂	100ml
—	说明书	1份

保存条件:

4°C保存。长期不使用可以-20°C保存。

注意事项:

- 使用高纯度的DNA有助于获得较高的转染效率。对于质粒，可以使用碧云天生产的质粒大量抽提试剂盒(D0026)进行抽提，以保证可以获得较高的转染效率。
- 转染前细胞必须处于良好的生长状态。
- 需自备不含抗生素的无血清Freestyle™ 293-F细胞培养液，可以使用SMM 293-T1培养基(M293TI-1)。
- Lipo293F™转染试剂不能vortex或离心，可以用移液器轻轻吹打混匀或缓慢摇动混匀。
- Lipo293F™转染试剂使用后请立即盖好盖子，避免长时间暴露在空气中，影响转染效率。
- 本产品对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. Freestyle™ 293-F细胞的培养：在37°C，125rpm，8% CO₂的摇床培养箱中培养；转染当天Freestyle™ 293-F细胞密度达到1.5-2.5×10⁶个/ml时可以进行转染，但细胞存活率需>95%；可以使用碧云天生产的台盼蓝染色细胞存活率检测试剂盒(C0011)进行细胞存活率检测。
2. 以50ml悬浮培养的Freestyle™ 293-F细胞为例，取两个洁净无菌离心管，分别加入1.25ml不含抗生素和血清的Freestyle™ 293-F细胞培养液；然后其中一管加入50μg质粒DNA，另一管加入100μl Lipo293F™转染试剂，分别用移液器轻轻吹打混匀，请特别注意不可Vortex或离心。将含有DNA的培养液用枪轻轻加入含Lipo293F™转染试剂的培养液中，轻轻颠倒离心管或者用枪轻轻吹打混匀，室温静置15分钟(室温存放6小时内稳定)。

转染体系体积	10ml	20ml	50ml	100ml	200ml	500ml
Lipo293F™转染试剂	20μl	40μl	100μl	200μl	400μl	1ml
Freestyle™ 293-F细胞培养液	0.25ml	0.5ml	1.25ml	2.5ml	5ml	12.5ml
DNA	10μg	20μg	50μg	100μg	200μg	500μg
Freestyle™ 293-F细胞培养液	0.25ml	0.5ml	1.25ml	2.5ml	5ml	12.5ml

单独稀释好的Lipo293F™转染试剂和DNA，混匀并室温静置放置15分钟，随后加入到培养的悬浮细胞中继续培养48-72小时，后续进行目的蛋白的检测和纯化。

3. 把2.5ml Lipo293F™转染试剂-DNA混合物全部加入到50ml悬浮培养的Freestyle™ 293-F细胞中。由于青霉素/链霉素双抗可能影响重组蛋白的表达，通常不建议在细胞转染时加入双抗；如细胞培养环境容易发生污染，可酌情加入1/5常规用量的双抗。
4. Freestyle™ 293-F细胞在37°C，125rpm，8% CO₂的摇床培养箱中继续培养48-72小时后，即可收集细胞进行目的蛋白的检测和纯化。

常见问题:

1. 转染效率低：
 - a. 优化质粒与Lipo293F™转染试剂比例，有必要是可以适当尝试加大质粒用量。
 - b. 应使用高纯度、无菌、无污染物的质粒进行转染，DNA纯度方面A₂₆₀/A₂₈₀比值要接近1.8通常宜控制在1.8-1.9范围内，偏低则有可能有蛋白污染，偏高则有可能有RNA污染。可以使用碧云天生产的质粒大量抽提试剂盒(D0026)进行抽提，以保证可以获得较高的转染效率。
 - c. 需用无抗生素和无血清培养液配制Lipo293F™转染试剂和质粒的混合物。
 - d. 转染后培养时间不足，而被误认为转染效率偏低。悬浮状态下的Freestyle™ 293-F细胞转染后至显著表达所需培养时间通常为48-72小时。
 - e. 检查细胞是否有支原体感染，支原体感染会影响细胞增殖，并很可能影响转染效率。
 - f. 如果没有检测到目的蛋白表达，应该仔细核对转染质粒的测序结果，确保测序结果和读码框完全正确。
 - g. 检查转染时细胞密度是否过高。
2. 细胞毒性较明显：
 - a. 目的基因的表达蛋白有毒性。此时可以和空载体转染效果比较，以确定是否是目的基因蛋白表达对细胞产生毒性。如果确定有细胞毒性，可以考虑适当减少质粒用量，并按照比例减少Lipo293F™转染试剂。
 - b. 检查转染时细胞密度是否太低。
 - c. 检查细胞是否有支原体等微生物污染。

附录:

常用多孔板和培养皿的尺寸、培养面积、细胞培养量和推荐的培养体积等相关数据表:

Multiple Well Plates or Dishes	Single Well Only for Plates					
	Diameter (Bottom, mm)*	Growth Area (cm ²)*	Average Cell Yield	Total Well Volume (ml)	Working Volume (ml)	Recommended Volume (ml)
6 well	34.8	9.5	9.5 × 10 ⁵	16.8	1.9-2.9	2
12 well	22.1	3.8	3.8 × 10 ⁵	6.9	0.76-1.14	1

24 well	15.6	1.9	1.9×10^5	3.4	0.38-0.57	0.5
48 well	11.0	0.95	9.5×10^4	1.6	0.19-0.285	0.25
96 well	6.4	0.32	3.2×10^4	0.36	0.10-0.20	0.1
384 well	2.7	0.056	5.6×10^3	0.112	0.025-0.050	0.030
1536 well	$1.63 \times 1.63^{**}$	0.025	2.5×10^3	0.0125	0.005-0.010	0.010
3.5 cm dish	34	9	9.0×10^5	NA	1.8-2.7	2
6 cm dish	52	21	2.1×10^6	NA	4.2-6.3	5
10 cm dish	8.4	55	5.5×10^6	NA	11-16.5	12
15cm dish	14	152	1.5×10^7	NA	30.4-45.6	35
24.5cm dish	$22.4 \times 22.4^{**}$	500	5.0×10^7	NA	100-150	120

*Diameter and growth area may vary depending on the manufacturer, and the listed sizes are from Corning.

**These wells or dishes are square.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0508	磷酸钙法细胞转染试剂盒	>200次
C0511	DEAE-Dextran细胞转染试剂盒	>200次
C0518-1ml	Lipo293F™转染试剂	1ml
C0518-10ml	Lipo293F™转染试剂	10ml
C0518-100ml	Lipo293F™转染试剂	100ml
C0521-0.5ml	Lipo293™转染试剂	0.5ml
C0521-1.5ml	Lipo293™转染试剂	1.5ml
C0521-7.5ml	Lipo293™转染试剂	5×1.5ml
C0526-0.5ml	Lipo6000™转染试剂	0.5ml
C0526-1.5ml	Lipo6000™转染试剂	1.5ml
C0526-7.5ml	Lipo6000™转染试剂	5×1.5ml
C0533-0.5ml	Lipo8000™转染试剂	0.5ml
C0533-1.5ml	Lipo8000™转染试剂	1.5ml
C0533-7.5ml	Lipo8000™转染试剂	5×1.5ml
C0551-0.5ml	LipoInsect™转染试剂	0.5ml
C0551-1.5ml	LipoInsect™转染试剂	1.5ml
C0551-7.5ml	LipoInsect™转染试剂	5×1.5ml

Version 2018.06.10