

Lipo293™转染试剂

产品编号	产品名称	包装
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

产品简介:

- 碧云天生产的Lipo293™转染试剂(Lipo293™ Transfection Reagent)是一种非常经济和高效的主要用于贴壁生长的HEK293、HEK293T、HEK293A、293FT等293系列细胞的基于新型阳离子脂质体的转染试剂。
- Lipo293™转染试剂对HEK293细胞系列的转染效率约70%以上,同时其具有细胞毒性低、重复性好、操作简单、转染后无需更换培养基以及成本低等突出优点。贴壁细胞转染试剂的比较和选择请参考: <http://www.beyotime.com/support/lipo.htm>。
- Lipo293™转染试剂也能用于其它贴壁细胞的转染,但转染效率远低于碧云天生产的Lipo6000™转染试剂(C0526)和Lipo8000™转染试剂(C0533)。因此不太推荐使用Lipo293™转染试剂用于293系列之外的细胞转染,仅当用于荧光素酶报告基因等检测灵敏度特别高的实验,并且用于一些比较容易转染的细胞时,才可以考虑使用Lipo293™转染试剂。
- Lipo293™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。
- Lipo293™转染试剂转染质粒进入贴壁培养的HEK293等293系列细胞后,通常在24-48小时后达到比较理想的蛋白表达水平。
- Lipo293™转染试剂的转染效率可以通过转染表达EGFP或其它荧光蛋白的质粒进行快速鉴定。
- Lipo293™转染试剂的转染效果请参考图1。

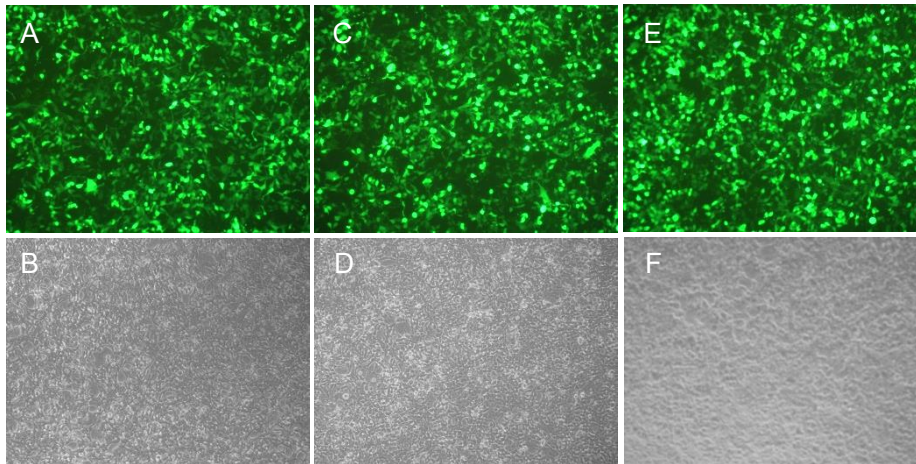


图1. Lipo293™转染试剂转染的转染效果图。Lipo293™转染试剂转染EGFP表达质粒至HEK293 (A, B)、HEK293T (C, D)和293FT (E, F)细胞的效果图。其中A、C、E为荧光照片; B、D、F为相应的明场照片。

- 每毫升Lipo293™转染试剂大约可以转染10厘米培养皿33个、6厘米培养皿100个、6孔板200个孔、12孔板500个孔、24孔板1000个孔、48孔板2000个孔、96孔板5000个孔。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
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
—	说明书	1份

保存条件:

4℃保存。长期不使用可以-20℃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。
- 对于非293系列细胞,推荐使用碧云天生产的Lipo6000™转染试剂(C0526)或Lipo8000™转染试剂(C0533)。对于悬浮培养的293系列细胞,推荐使用碧云天生产的Lipo293F™转染试剂(C0518)。
- 需自备不含抗生素的无血清培养液或Opti-MEM® Medium。
- Lipo293™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。
- Lipo293™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. 细胞培养(以六孔板为例,其它培养板或培养皿参考六孔板):在转染前一天(18-24小时)把约20-60万细胞(具体的细胞数量据细胞类型、大小和细胞生长速度而定)培养到六孔板内,使第二天细胞能达到约60-70%。
2. 在进行下述转染步骤前,把培养有细胞的六孔板每孔换成2ml新鲜培养液(含有血清,不含抗生素)。可以使用含有血清并含有抗生素的新鲜培养液,但抗生素的存在对于有些细胞容易导致转染后出现一定的细胞毒性。
3. 参考下表,对于待转染的六孔板中每一个孔的细胞,取两个洁净无菌离心管,分别加入125μl不含抗生素和血清的DMEM培养液(高糖DMEM或低糖DMEM均可)或Opti-MEM® Medium,然后于其中一管加入2.5μg质粒DNA,并用枪轻轻吹打混匀;另一管加入5μl Lipo293™转染试剂,用枪轻轻吹打混匀,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Lipo293™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)。

	96-well	48-well	24-well	12-well	6-well	6cm dish	10cm dish
Lipo293™转染试剂	0.2μl	0.5μl	1μl	2μl	5μl	10μl	30μl
无血清培养液或Opti-MEM® Medium	5μl	12.5μl	25μl	50μl	125μl	250μl	750μl
DNA	100ng	250ng	500ng	1μg	2.5μg	5μg	15μg
无血清培养液或Opti-MEM® Medium	5μl	12.5μl	25μl	50μl	125μl	250μl	750μl
单独稀释好的Lipo293™转染试剂和DNA,混匀并室温静置放置15分钟							
每孔加入的混合物的量	10μl	25μl	50μl	100μl	250μl	500μl	1500μl
按照上述用量每孔均匀滴加Lipo293细胞转染试剂和DNA的混合物,继续培养48-72小时							

注1:对于六孔板中一个孔的细胞,Lipo293™转染试剂的用量可以在3-12.5μl内进行适当调节,DNA用量可以在1-4μg的范围内进行适当调节。质粒用量(μg)和Lipo293™(μl)的用量1:2比较常用。最佳的转染条件,因不同细胞类型和培养条件而定,可以在上述推荐范围内自行优化转染条件。

注2:对于多个孔转染相同数量相同质粒的情况,可以把每个孔所需的Lipo293™转染试剂和DNA混合物分别配制,然后一起混合在同一个离心管内,后续混匀并孵育20分钟后,可以按照推荐用量滴加到细胞培养器皿内。

注3:对于其它培养板或培养器皿,各种试剂的用量可以按照细胞培养面积按比例进行换算。如果转染RNA或寡核苷酸等可以参考转染DNA的条件进行。

4. 按照六孔板每孔250μl Lipo293™转染试剂-DNA混合物的用量,均匀滴加到整个孔内,随后轻轻混匀。
5. 继续培养约24-48小时后,即可用适当方式检测转染效果,例如荧光检测、Western、ELISA、报告基因等,或加入适当的筛选药物如G418等进行稳定细胞株的筛选。

常见问题:

1. 转染效率低:
 - a. 优化质粒与Lipo293™转染试剂比例,适当加大质粒用量。
 - 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 A_{260}/A_{280} 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Lipo293™转染试剂和质粒的混合物。
 - d. 细胞转染时应状态良好,并且使用本产品时细胞密度达到60-70%时最适合进行转染,过稀或过密都可能影响转染效率,不同细胞的最佳转染密度需要自行摸索。
 - e. 转染后培养时间不足,而被误认为转染效率偏低。细胞转染后至显著表达所需培养时间通常为24-48小时。
 - f. 检查细胞是否支原体感染,支原体感染会影响细胞增殖,并很可能影响转染效率。
 - g. 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。启动子、复制起始位点、质粒大小都会影响基因表达水平。
2. 出现一定的细胞毒性:
 - a. 转染前,细胞至少铺板18-24小时。
 - b. 目的基因的表达蛋白有毒性。此时可以和空载质粒转染效果比较,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Lipo293™转染试剂。
 - c. 检查是否转染时细胞密度太低。

d. 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 × 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 × 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