

产 品 说 明 书

LipoGene 2000 Star 转染试剂（低毒款）

产品货号：L7002S, L7002M, L7002L

产品规格：50 μ L, 0.75 mL, 1.5 mL

储存条件

4°C保存，有效期见外包装（避免冷冻）。

产品介绍

LipoGene 2000 Star 转染试剂相较于 LipoGene 2000 Plus 转染试剂（高效款）（CAT: L7003）来讲，对细胞毒性更低，更适用于对毒性敏感的细胞转染。适用于把质粒、siRNA 或其它形式的核酸包括 DNA、RNA、寡核苷酸转染到真核细胞中。

LipoGene 2000 Star 转染试剂对于常见的哺乳动物细胞具有非常高的转染效率、重复性好、操作简单、无明显的细胞毒性，并且对于贴壁细胞和悬浮细胞都适用。

LipoGene 2000 Star 转染试剂的使用方法和常用的 T 公司 L*2000 Reagent 完全一致，转染效率比 L*2000 Reagent 更高。

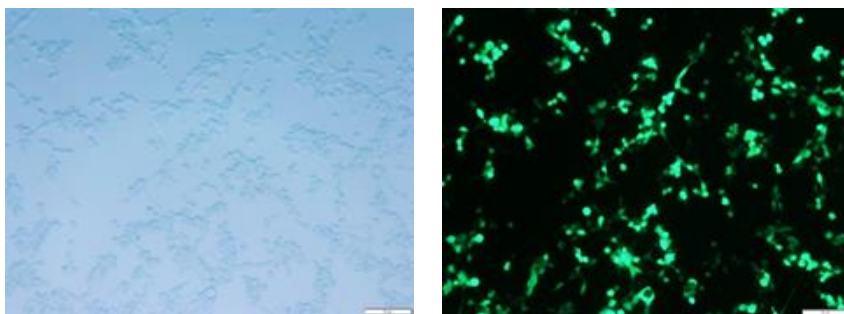
LipoGene 2000 Star 转染试剂不仅适用于质粒、siRNA 等单一成分的细胞转染，也适合多个质粒或者质粒与 siRNA 等的组合转染。

LipoGene 2000 Star 转染试剂转染过表达质粒后，通常 24-48 h 后达到较高的蛋白表达水平，并且很多情况下蛋白表达量在转染后 48 h 显著高于转染后 24 h；转染 siRNA 通常 3-5 天后对于目的基因的下调水平会比较理想。

LipoGene 2000 Star 转染试剂转染细胞时，基本不受细胞培养液中血清影响，即可以在血清存在的情况下进行细胞转染。但为了取得最佳的转染效果，推荐转染时使用不含抗生素培养液。转染后不必去除转染液，或者改变或添加培养基，但转染 4-6 h 后可去除转染液。

以 96 孔板转染单个 DNA 质粒计算，0.75 mL 的 LipoGene 2000 Star 转染试剂（低毒款）可做 1500 个孔。

实验效果



HEK 293 细胞转染效果，转染效率高达 90%以上



转染数据

	细胞系	转染效率(%)
人肾上皮细胞系	293-F	99
	293-S	99
人神经母细胞	BE(2)C	77
中国仓鼠纤维母细胞系	CHO	96
	CHO-S	97
非洲绿猴肾成纤维细胞	COS-7L	99
非洲绿猴肾细胞	CV-1	70
人胚肾细胞	HEK-293	99
人宫颈癌细胞系	HeLa	94
人成纤维肉瘤细胞	HT-1080	81
犬肾细胞	MDCK	43
小鼠胚胎成纤维细胞系	NIH-3T3	80
人乳腺癌细胞	SKBR3	49
非洲绿猴肾细胞	Vero	86

使用方法

1. DNA 转染

下列步骤适用于 24 孔板培养的哺乳动物细胞，至于其他培养材料，请参考转染规模调整，所有数量和体积均是按孔计算。大部分细胞系所使用的 DNA (μg) 与 LipoGene 2000 Star 转染试剂 (μL) 的比值为 1:2 到 1:3，转染高密度细胞可获得高转染效率、高表达水平和低细胞毒性。优化转染是必需的（见优化质粒 DNA 转染）。

A. 贴壁细胞：转染前一天每孔 $0.5-2 \times 10^5$ 个细胞接种于 500 μL 不含抗生素的培养基中，在转染时细胞可长至 70-90% 汇合度。

悬浮细胞：在配制转染液前每孔 $4-8 \times 10^5$ 个细胞接种于 500 μL 不含抗生素的培养基中。

B. 转染液制备，每孔细胞用量如下：

a. 用 50 μL Opti-MEM 低血清培养基（或者其他无血清培养基）稀释质粒 DNA，轻轻混匀。

b. 使用前轻轻摇匀 LipoGene 2000 Star 转染试剂，然后取适量 LipoGene 2000 Star 转染试剂在 50 μL Opti-MEM 培养基中稀释，室温孵育 5 min。注意：请在 25 min 内进行下一步操作。

c. 将前两步所稀释的 DNA 和 LipoGene 2000 Star 转染试剂混合（使总体积为 100 μL ），轻轻混匀，室温放置 20 min（溶液可出现浑浊）。

注：转染复合物常温下可在 6 h 内保持稳定。



C. 在每孔细胞中加入 100 μ L 转染液，轻轻摇匀。

D. 37°C 培养 18-48 h 后检测基因表达，转染 4-6 h 后可更换培养基。

对于稳定转染，在转染 24 h 后以 1: 10 稀释接种于新鲜培养基中，第二天可加入选择培养基。

优化 DNA 转染

可通过改变细胞密度、质粒 DNA 密度和 LipoGene 2000 Star 转染试剂浓度以优化转染。要保证细胞融合在 90% 以上，DNA (μ g): LipoGene 2000 Star 转染试剂 (μ L) 可在 1: 0.5 到 1: 5 之间进行调整。

2. RNAi 或 siRNA 转染

下列步骤适用于 24 孔板培养的哺乳动物细胞，至于其他培养材料，请参考转染规模调整，所有数量和体积均是按每孔计算。

A. 转染前一日，将细胞接种于 500 μ L 不含抗生素的培养基中，使其在转染时长至 30-50% 汇合度。

B. 转染液制备，每孔细胞用量如下：

a. 用 50 μ L Opti-MEM 低血清培养基（或者其他无血清基）稀释 20 pmol siRNA（转染时 siRNA 终浓度为 33 nM），轻轻混匀。

b. 使用前轻轻摇匀 LipoGene 2000 Star 转染试剂，然后取 1 μ L LipoGene 2000 Star 转染试剂在 50 μ L Opti-MEM 培养基中稀释，室温孵育 5 min。

注：请在 25 min 内进行下一步操作。

c. 将前两步所稀释的 RNA 和 LipoGene 2000 Star 转染试剂混合（使总体积为 100 μ L），轻轻混匀，室温放置 20 min（溶液可出现浑浊）。

C. 在每孔细胞中加入 100 μ L 转染液，轻轻摇匀。37°C 培养 24-96 h 后检测基因表达，转染 4-6 h 后可更换培养基。

siRNA 转染优化

可调整 siRNA 与 LipoGene 2000 Star 转染试剂的用量以优化转染，在 24 孔板，siRNA 可在 10-50 pmol 之间调整，LipoGene 2000 Star 转染试剂可在 0.5-1.5 μ L 之间调整，在增加细胞密度时也应优化转染剂量。

转染规模调整

不同培养材料转染液、细胞和培养基的用量按照培养材料面积换算。在 96 孔板细胞高通量自动分析系统，推荐每孔使用 50 μ L 转染液。

注：在 96 孔板，可将细胞直接接种于转染液中以实现快速转染，直接在培养板中配制转染液 100 μ L，直接将细胞加入培养板中，其密度为上述方法的 2 倍，细胞在转染液中可正常贴壁。

培养材料	接种培养基	稀释用 Opti-MEM	DNA 转染		siRNA 转染	
			DNA	Lipo	siRNA	Lipo



				Gene		Gene
96 孔板	100 μ L	2 $\times$ 25 μ L	0.2 μ g	0.5 μ L	5 pmoL	0.25 μ L
24 孔板	500 μ L	2 $\times$ 50 μ L	0.8 μ g	2.0 μ L	20 pmoL	1.0 μ L
12 孔板	1 mL	2 $\times$ 100 μ L	1.6 μ g	4.0 μ L	40 pmoL	2.0 μ L
6 孔板	2 mL	2 $\times$ 250 μ L	4.0 μ g	10 μ L	100 pmoL	5.0 μ L
60-mm	5 mL	2 $\times$ 0.5 mL	8.0 μ g	20 μ L	200 pmoL	10 μ L
10-cm	15 mL	2 $\times$ 1.5 mL	24 μ g	60 μ L	600 pmoL	30 μ L

注意事项

1. 使用高纯度的 DNA 或 RNA 有助于获得较高的转染效率。
2. 转染前细胞必须处于良好的生长状态。
3. 需自备不含抗生素的无血清培养液或 Opti-MEM®培养液或普通的 DMEM 培养液。
4. LipoGene 2000 Star 转染试剂不能 vortex 或离心，宜缓慢晃动混匀。
5. LipoGene 2000 Star 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。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

