

LipoMax™ 转染试剂

产品描述： LipoMax 是一款新开发的真核细胞核酸转染专利试剂。它具有多重优势：

- 在多种细胞中具有超高转染效率；
- DNA-LipoMax 复合体可直接加入细胞培养液中，有无血清均可；
- 多数细胞转染后不必换液，少数敏感细胞可在转染后 4-6 小时换液去除 DNA-LipoMax 复合体。
- 不建议用本产品转染 RNA

试剂与储存： LipoMax 为浓度 5 mg/ml 的液体试剂。4 度保存。请勿冷冻。

货号	体积
32010 (试用装)	0.05 ml
32011	0.75 ml
32012	1.5 ml

产品质量： LipoMax 转染试剂在易转染细胞如：HEK293, MCF7,和不易转染细胞如：小鼠滋养层干细胞 (TS) 和 C2C12 细胞中进行过大量的测试，LipoMax 转染试剂无微生物污染。

重要参考：

1. DNA (μg) 与 LipoMax (μl)的比例适用于 1: 2 至 1: 3。以 24 孔板的 1 个孔为例，转染 $0.3\text{-}2.0\times 10^5$ 细胞可用 0.5-1 μg DNA 与 1-3 μl LipoMax 混合。针对具体实验，调节 DNA/LipoMax 比例可以优化转染效率。
2. LipoMax 细胞毒性低，多数细胞转染时的细胞密度可适用较宽范围，如 50-90%，60-80% 的细胞密度通常可以获得较好的转染效果，具体细胞以优化后条件为准。
3. 转染时，不必使用无抗生素培养基。
4. 可以用 Opti-MEM 或其它无血清培养基，如 DMEM,来稀释 DNA 与 LipoMax。如用其它无血清培养基稀释，需要优化条件。

转染步骤： 以 24 孔板 1 孔为例。

贴壁细胞： 转染前一天接种适量细胞以达到第二天转染时 50-90%的细胞密度，如 $0.3\text{-}2.0\times 10^5$ 。

悬浮细胞： 转染当天接种 $4\text{-}8\times 10^5$ 细胞于 1 孔 24 孔板中。

1. 按如下方法混合制备 DNA-LipoMax 复合体
 - 将适量 DNA 稀释在 25 μl Opti-MEM 无血清培养基中，混合均匀。
 - 轻轻混匀 LipoMax，吸取适量体积稀释在 25 μl Opti-MEM 无血清培养基中，混合均匀并置于室温 5 分钟。注：稀释后的 DNA 与 LipoMax 应在 30 分钟内混合，超过 30 分钟可能会降低效果。如果用 DMEM 来稀释 LipoMax，则应在 10 分钟内与 DNA 混合。
 - 5 分钟后混合稀释好的 DNA 与 LipoMax，共 50 μl ，混合均匀并室温放置 20 分钟以形成复合体。注：该复合体在室温中可保持稳定至少 5 小时。
2. 将 50 μl DNA-LipoMax 复合体加到细胞培养皿中，轻轻摇晃培养皿混匀。

3. 在 37 度 CO₂ 培养箱中培养 24-48 小时之后进行转染效率检测。转染后 4-6 小时换液不会降低转染效果，可以不必换液。

稳定细胞系筛选：转染 24 小时后，以 1:10 或者更高的比例传代细胞，贴壁后加入筛选抗生素。

悬浮细胞：加入转染复合体 4 小时后在细胞培养基中加入 PMA 或 PHA。为促进 Jurket 细胞 CMV 启动子活性和基因表达，PHA-L 和 PMA 的终浓度分别为 1 µg/ml 和 50 ng/ml。对于 K562 细胞，单独加 PMA 可有效促进基因表达。

放大或缩小转染体系：

转染除 24 孔板之外的其它细胞培养皿中的细胞，可根据培养面积按比例调整 DNA, LipoMax, 细胞量和培养基体积（参见下表）。对于自动化，大规模 96 孔板体系，建议混合大体积的转染复合体。注：可通过将悬浮细胞直接加入 96 孔板中混合的转染复合体实现快速操作。悬浮细胞密度应为常规细胞接种的 2 倍。

培养皿	单孔培养表面积 (cm ²)	相对面积 (对比 24 孔板 1 孔)	单孔培养基体积	DNA (µg) 与稀释体积	LipoMax (µl) 与稀释体积
96 孔板	0.3	0.15	100 µl	0.1 µg in 10 µl	0.3 µl in 10 µl
24 孔板	2	1	500 µl	0.5 µg in 25 µl	1.5 µl in 25 µl
12 孔板	4	2	1 ml	1.0 µg in 50 µl	3.0 µl in 50 µl
35 mm	10	5	2 ml	2.5 µg in 100 µl	7.5 µl in 100 µl
6 孔板	10	5	2 ml	2.5 µg in 100 µl	7.5 µl in 100 µl
60 mm	20	10	4 ml	5.0 µg in 200 µl	15 µl in 200 µl
10 cm	60	30	10 ml	15 µg in 500 µl	45 µl in 500 µl

优化转染条件：

可通过调整 DNA, LipoMax 浓度，细胞密度以获得最高转染效率和降低对细胞的非特异性影响。可在 50-90%之间调整细胞密度。DNA (µg)与 LipoMax (µl)比例可在 1:0.5 到 1:5 范围内调整。