产品说明书

1. 产品内容:

组分	货号	规格
TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent	LS-0201	1.5ml×1 支
TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent	LS-0202	1.5ml×5 支

注: 微量体积试剂请在正式实验开始前进行瞬时离心操作

2. 储存条件:

4℃保存,一年有效(**避免冷冻**)。

3. 产品介绍:

TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 是一种新型的阳离子脂质体转染试剂。适合于将核酸 DNA 转染入真核细胞,具有低细胞毒性;对多种类型的细胞和培养板都具有高转染效率;转染时血清的存在不影响转染效率的优点。

TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 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。TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 主要适用于 DNA 等单一成分的细胞转染。

TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 转染过表达质粒后,通常 24-48h 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 48h 显著高于转染后 24h。

TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 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 4-6h 后可去除转染液。

4. 使用方法:

① DNA 转染

对大多数细胞来说, $DNA(\mu g)$ 与 TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent (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。

1. 以 24 孔板为例

贴壁细胞:转染前一天,用 500μL 不含抗生素的培养基接种 $0.5\sim2\times10^5$ 细胞,使之第二天能达到 70-90% 汇合。悬浮细胞:在准备 DNA-TRLIP 复合物之前用 500μL 不含抗生素的培养基接种 $4\sim8\times10^5$ 细胞即可。

- 2. 对每个转染样品,进行以下操作:
- a. 在 eppendorf 管里分别加入 50 μL Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 0.8 μg DNA 轻柔混匀 (不能涡旋或离心) ,制成 DNA 稀释液。
- b. 在另一个 eppendorf 管里分别加入 50μL Opti-MEMI ReLipced Serum Medium 和 2.0 μL TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent(注意用前先混匀), 轻柔混匀,制成 TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 稀释液,室温静置 5 分钟。
- c. 将 DNA 稀释液和 TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 稀释液混合,轻柔混匀,室温静置 20 分钟,形成 DNA-TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 复合物。复合物在室温下可稳定存在 6 小时。



- 3. 将 DNA-TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 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。
- 4. 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。
- 5. 如果要筛选稳定细胞株,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。

② 优化 DNA 转染

质粒 DNA 转染的优化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 TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 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 TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent (μL) 的比例。

不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及 TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 用量

细胞培	每孔 面积	培养基	甚用量	DNA转染		
细胞培 养板		铺板培养 基用量	稀释培养 基用量	DNA	转染 试剂	
96well	0.3cm2	100µl	2×25µl	0.2µg	0.5µl	
24well	2cm2	500µl	2×50µl	0.8µg	2.0µl	
12well	4cm2	1ml	2×100µl	1.6µg	4.0µl	
6well	10cm2	2ml	2×250µl	4.0µg	10µl	
60mm	20cm2	5ml	2×0.5ml	8.0µg	20μl	
10cm	60cm2	15ml	2×1.5ml	24μg	60µl	

常见细胞的 TRLIP 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	HCT 116	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-	HUVEC	MDCK	Hep2C	WEHI	B50	Calu1	L929
转染效率	>50%	>50%	>80%	>80%	>70%	>80%	>80%	>80%	>80%	>70%	>70%	>70%

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	3×104	0.2µg	0.5µL
293FT	DMEM	3×104	0.2μg	0.5µL
293E	DMEM	3×104	0.2µg	0.5µL
293F	DMEM	3×104	0.2μg	0.5µL
COS7	DMEM	1.5×104	0.4µg	0.5µL
hela	DMEM	2×104	0.3μg	0.5µL
Caco2	MEM	3.5×104	0.3µg	0.75µL
BHK21	MEM	2×104	0.2μg	0.5µL
CH0-DG44	DMEM+HT+pro	2×104	0.5µg	0.5µL
RAW264.7	DMEM	3×104	0.2μg	0.5µL
MCF7	MEM/NEAA+0.01mg/mL insulin+sodium pyruvat	2×104	0.1μg	0.25
SW480	IMEM	3×104	0.4µg	0.5µL
MDCK	DMEM	4×104	0.6µg	1µL
CH0-K1	IMEM+Pro	3×104	0.2µg	0.5µL
HepG2	DMEM	3×104	0.5µg	0.75µL
A549	DMEM	2×104	0.3µg	0.5µL
NIH/3T3	DMEM	1.5×104	0.1μg	0.75µL
vero	DMEM	3×104	0.3µg	0.75µL
sf9	SIM SF	5×104	0.4µg	0.75µL

5.注意事项

- A. 使用高纯度的 DNA 有助于获得较高的转染效率。
- B. 转染前细胞必须处于良好的生长状态。
- C. 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。
- D. TRLIP 高效 DNA Transfection Reagent 转染试剂不能涡旋或离心,宜缓慢晃动混匀。
- E. 转染试剂使用后请立即盖好盖子,避免长时间暴露空气中。
- F. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。