



NG2000 Transfection Reagent

货号: NG2000S 0.75ml

NG2000M 1.5ml

储存条件: 2-4°C保存一年。(避免冷冻)

产品简介: NG2000 是一种新型的阳离子脂质体转染试剂。适合于将核酸(DNA 和 RNA)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。

适用范围: 贴壁细胞和悬浮细胞 (哺乳动物细胞系) 的转染。

操作步骤: 质粒 DNA 的转染: 对大多数细胞来说, DNA(μg)与 NG2000 (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 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $0.5\text{-}2 \times 10^5$ 细胞, 使之第二天能达到 70-90% 汇合。 悬浮细胞: 在准备 DNA-NG2000 复合物之前, 用 500 μl 不含抗生素的培养基接种 $4\text{-}8 \times 10^5$ 细胞即可。

2. 对每个转染样品, 进行以下操作

a. 在 EP 管里分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 0.8 μg DNA, 轻柔混匀, 制成 DNA 稀释液。

b. 在另一个 EP 管里分别加入 50 μl Opti-MEM I ReLipced Serum Medium 和 2.0 μl NG2000 (注意用前 先混匀), 轻柔混匀, 制 成 NG2000 稀释液, 室温静置 5 分钟。

c. 将 DNA 稀释液和 Lip2000 稀释液混合, 轻柔混匀, 室温静置 20 分钟, 形成 DNA-NG2000 复合物。DNA-NG2000 复合物在室温下可稳定存在 6 小时。

3. 将 DNA-NG2000 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°C 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。

以下是不同细胞培养板中转染时培养基、核酸及 NG2000 用量

细胞培养板	每孔面积	培养基用量		DNA 转染		siRNA	
		铺板培养基用量	稀释培养基用量				
96-well	0.3 cm ²	100 μl	2 \times 25 μl	0.2 μg	0.5 μl	5 pmol	0.25 μl
24-well	2 cm ²	500 μl	2 \times 50 μl	0.8 μg	2.0 μl	20 pmol	1.0 μl
12-well	4 cm ²	1 ml	2 \times 100 μl	1.6 μg	4.0 μl	40 pmol	2.0 μl
6-well	10 cm ²	2 ml	2 \times 250 μl	4.0 μg	10 μl	100 pmol	5 μl
60-mm	20 cm ²	5 ml	2 \times 0.5 ml	8.0 μg	20 μl	200 pmol	10 μl
10-cm	60 cm ²	15 ml	2 \times 1.5 ml	24 μg	60 μl	600 pmol	30 μl

附录一: 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 NG2000 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 NG2000 (μl) 的比例。