## Lipofectamine ™ 2000

Cat. No. 11668-027 Size: 0.75 ml

Cat. No. 11668-019 Size: 1.5 ml

Cat. No. 11668-500 Size: 15 ml

Store at +4℃ (do not freeze)

### 产品特点

Lipofectamine 2000 转染真核细胞具有以下优点：

- 对多种细胞和培养器皿具有很高的转染效率，成功转染的细胞系。
  见 www.invitrogen.com Cell Lines 数据库。
- 核酸-Lipofectamine 2000 复合物（转染液）可直接加入细胞培养基中，不管培养基是否含有血清。
- 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 小时后可去除转染液。

### 注意事项

- 推荐在混合前使用 Opti-MEM 低血清培养基(Cat. No. 31985-062) 稀释 Lipofectamine 2000 和核酸。
- 转染过程中勿向培养基中添加抗生素，以免造成细胞死亡。
- 不同批实验请保持细胞接种条件相同。
- 请检测无血清培养基与 Lipofectamine 2000 的兼容性，因为一些无血清培养基（如 CD293，SFM II，VP-SFM 等）可能抑制阳离子脂质体介导的的转染。

### 脂质体 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。

1. 转染前一日，将细胞接种于 500 µl 不含抗生素的培养基中，使其在转染时长至 30 - 50% 融合。
2. 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 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 Lipofectamine 2000，然后取 1 µl Lipofectamine 2000 在 50 µl Opti-MEM 培养基中稀释，室温孵育 5 分钟。注意：请在 25 分钟内进行下一步操作；
   C. 将前两步所稀释的 DNA 和 Lipofectamine 2000 混合（使总体积为 100 µl），轻轻混匀，室温放置 20 分钟（溶液可出现浑浊）。
3. 在每孔细胞中加入 100 µl 转染液，轻轻摇匀。
   37℃培养 24 - 96 小时后检测基因表达，转染 4 - 6 小时后可更换培养基。

### 脂质体 siRNA 转染优化

可调整 siRNA 与 Lipofectamine 2000 的用量以优化转染，在 24 孔板，siRNA 可在 10 - 50 pmol 之间调整，Lipofectamine 2000 可在 0.5 - 1.5 µl 之间调整，在增加细胞密度时也应优化转染剂量。

### 脂质体 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 Lipofectamine 2000

吉玛基因

（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（见优化脂粒 DNA 转染）。

1．贴壁细胞：转染前一天每孔 0.5 - 2 x$10^5$ 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 90 - 95%融合。

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

2．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 Lipofectamine 2000，然后取适量 Lipofectamine 2000 在 50 μl Opti-MEM 培养基中稀释，室温孵育 5 分钟。注意：请在 25 分钟内进行下一步操作；

C．将前两步所稀释的 DNA 和 Lipofectamine 2000 混合（使总体积为 100 μl），轻轻混匀，室温放置 20 分钟（溶液可出现浑浊）。注意：转染复合物常温下可在 6 小时内保持稳定。

3．在每孔细胞中加入 100 μl 转染液，轻轻摇匀。

4．37℃培养 18-48 小时后检测基因表达，转染 4-6 小时后可更换培养基。

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

**优化脂质体 DNA 转染**

可通过改变细胞密度、质粒 DNA 密度和 Lipofectamine 2000 浓度以优化转染。要保证细胞融合在 90%以上，DNA (μg)：Lipofectamine 2000 (μl)可在 1:0.5 到 1:5 之间进行调整。

**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 μl 转染液。注意：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 100μl，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 | 每孔面积 | 接种培养基 | 稀释用 Opti-MEM | siRNA 转染 | | DNA 转染 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | siRNA | Lipofecta-mine2000 | DNA | Lipofecta-mine2000 |
| 96 孔板 | 0.3 $cm^2$ | 100 μl | 2×25 μl | 5 pmol | 0.25 μl | 0.2 μg | 0.5 μl |
| 24 孔板 | 2 $cm^2$ | 500 μl | 2×50 μl | 20 pmol | 1.0 μl | 0.8 μg | 2.0 μl |
| 12 孔板 | 4 $cm^2$ | 1 ml | 2×100 μl | 40 pmol | 2.0 μl | 1.6 μg | 4.0 μl |
| 6 孔板 | 10 $cm^2$ | 2 ml | 2×250 μl | 100 pmol | 5 μl | 4.0 μg | 10 μl |
| 60-mm | 20 $cm^2$ | 5 ml | 2×0.5 ml | 200 pmol | 10 μl | 8.0 μg | 20 μl |
| 10-cm | 60 $cm^2$ | 15 ml | 2×1.5 ml | 600 pmol | 30 μl | 24 μg | 60 μl |