

# 产品说明书

## 产品名称: LipoGene™ 2000 PLus Transfection Reagent (高效款)

产品货号: BN17003

产品规格: 0.75 mL, 1.5 mL

### 储存条件

4°C 保存, 一年有效 (避免冷冻)。

### 产品介绍

LipoGene™ 2000 PLus Transfection Reagent 是一种非常高效的新型转染试剂, 达到了国际最主流转染试剂的转染效果。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 PLus 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。

LipoGene™ 2000 PLus Transfection Reagent 转染试剂的使用方法和常用的 Lipofectamine®2000 Reagent 完全一致, 转染效率也和 Lipofectamine® 2000 Reagent 相当甚至略高。

LipoGene™ 2000 PLus Transfection Reagent 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 PLus Transfection Reagent 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 PLus Transfection Reagent 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。

### 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 ( $\mu\text{g}$ ) 与 LipoGene™ 2000 PLus Transfection Reagent ( $\mu\text{L}$ ) 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  $0.5\text{-}2 \times 10^5$  个细胞接种于 500  $\mu\text{L}$  不含抗生素的培养基中, 在转染时细胞可长至 70-90% 融合。

悬浮细胞: 在配制转染液前每孔  $4\text{-}8 \times 10^5$  个细胞接种于 500  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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 PLus Transfection Reagent, 然后取适量 LipoGene™ 2000 PLus Transfection Reagent 在 50  $\mu\text{L}$  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 PLus Transfection Reagent 混合 (使总体积为 100  $\mu\text{L}$ ), 轻轻混匀, 室温放置 20 min (溶液可出现浊)。

注意: 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  $\mu\text{L}$  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 Plus Transfection Reagent 浓度以优化转染。要保证细胞融合在 90% 以上，DNA (μg): LipoGene™2000 Plus Transfection Reagent (μL) 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 μL 不含抗生素的培养基中，使其在转染时长至 30-50% 融合。

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 Plus Transfection Reagent，然后取 1 μL LipoGene™ 2000 Plus Transfection Reagent 在 50 μL Opti-MEM I 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 RNA 和 LipoGene™ 2000 Plus Transfection Reagent 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）。

C. 在每孔细胞中加入 100 μL 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 Plus Transfection Reagent 的用量以优化转染，在 24 孔板，siRNA 可在 10-50 pmoL 之间调整，LipoGene™ 2000 Plus Transfection Reagent 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。

### 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 100 μL，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	
			DN A	Lip o Gene	siRN A	Lipo Gene
96 孔板	100 μL	2×25 μL	0.2 μg	0.5 μL	5 pmoL	0.25 μL
24 孔板	500 μL	2×50 μL	0.8 μg	2.0 μL	20 pmoL	1.0 μL
12 孔板	1 mL	2×100 μL	1.6 μg	4.0 μL	40 pmoL	2.0 μL
6 孔板	2 mL	2×250 μL	4.0 μg	10 μL	100 pmoL	5.0 μL
60-mm	5 mL	2×0.5 mL	8.0 μg	20 μL	200 pmoL	10 μL
10-cm	15 mL	2×1.5 mL	24 μg	60 μL	600 pmoL	30 μL

### 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 Plus Transfection Reagent 转染试剂不能 vortex 或离心，宜缓慢晃动混匀。
5. LipoGene™ 2000 Plus Transfection Reagent 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。