

线性 PEI 转染试剂

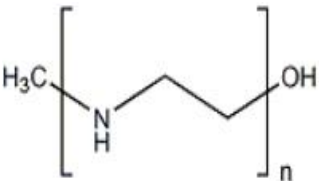
产品货号: P2500

储存条件: 粉末在室温或 4℃ 保存, 有效期 2 年。储存液-20℃ 保存, 有效期 1 年; 4℃ 保存, 有效期 2 周。不可重新冻存。

产品简介

线性化聚乙烯亚胺 PEI 25000 转染试剂是一种高电荷阳离子聚合物, 非常容易结合带负电荷的核酸分子, 形成复合物, 并使该复合物进入细胞中。该转染试剂是一种瞬时转染试剂, 细胞毒性低, 转染效率高, 在 HEK293 和 CHO 等细胞中基因表达效率较高。目前已经验证线性 PEI 转染试剂广泛适用于多种细胞系包括 HEK-293、HEK293T、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3、Sf9、HepG2 和 Hela 细胞等。该试剂与含血清的培养基兼容, 能高效的将核酸导入细胞。

产品性质

中文名 (Chinese Name)	线性聚乙烯亚胺 PEI 25000
英文名 (English Name)	Polyethylenimine Linear (PEI) MW25000
CAS 号 (CAS No.)	9002-98-6, 26913-06-4
分子式 (Molecular formula)	(CH ₂ CH ₂ NH) _n
分子量 (Molecular weight)	25,000
外观 (Appearance)	白色至黄色固体
熔点 (Melting Point)	73~75℃
溶解性 (Solubility)	溶于: 热水, 低 pH 的冷水, 甲醇和乙醇。不溶于: 苯, 乙醚和丙酮
结构式 (Structure)	

储存液配置 (1 mg/mL)

1. 材料

PEI 25000、Milli-Q® 水/注射用水 (WFI) 或类似的生物级水、12 mol/L 盐酸 (HCl)、10 mol/L 氢氧化钠 (NaOH)、一次性 0.1~0.2 μm PES 真空无菌过滤器、无菌 HDPE 或聚丙烯储存瓶。



2. 配置储存液 (1 mg/mL)

- 1) 于 1 L 玻璃烧杯, 将 1g PEI 25000 粉末加入 900 mL Milli-Q®超纯水或其他相当级别的生物用水中, 在磁子搅拌器上搅拌均匀, 产生小涡。
- 2) 边搅拌边滴加入盐酸 (12 mol/L) 调节 pH, 直至 pH<2.0。
- 3) 盖上烧杯顶部并搅拌 3 小时至完全溶解; 整个过程要保持 pH<2.0。

【注】: 可能会存在一些小纤维状颗粒不能溶解, 这是正常现象。

- 4) 边搅拌边滴加入 NaOH (10 mol/L) 调节 pH, 直至到 6.9~7.1。
- 5) 将溶液转入量筒内, 并加水定容到 1 L。
- 6) 用一次性 0.1~0.2 μm PES 真空过滤器过滤除菌, 即得到 1 mg/mL 的储存液。
- 7) 根据需要分装并储存在 -20 °C, 1 年稳定。

【注】: 储存液再次融化后, 可置于 4 °C 保存, 2 周稳定, 但绝不可重新冻存。

转染操作流程 (以 6 孔板为例)

1. 接种细胞:

为了提高转染效率, 建议在转染前一天接种细胞, 以转染时细胞密度在 70%~80%为宜。

2. 准备 DNA-PEI 复合物:

按照以下体系配制 DNA-PEI 核酸-转染试剂复合物:

- 1) 对于每孔细胞, 使用 100 μL 无血清培养基稀释 2 μg 目的 DNA, 充分混匀成 DNA 稀释液。

【注】: 无血清稀释液建议采用 Opti-MEM 或 ddH₂O

- 2) 立刻向 100 μL 的 DNA 稀释液中加入 5 μL 的 PEI 25000 转染试剂, 旋涡 10 秒, 充分混匀。
- 3) 在室温下孵育 10~25 min, 使得形成 DNA-PEI 阳离子核酸转染试剂复合物。

3. 转染细胞:

- 1) 在形成复合物过程中, 移除细胞生长培养基, 每孔中加入 2 mL 新鲜预热的完全培养基。
- 2) 直接将 100 μL DNA-PEI 核酸-PEI 复合物加入细胞中, 摇动培养板, 轻轻混匀。
- 3) 37 °C, 5% CO₂ 培养箱培养, 转染后最快 7 h 即可检测到转入基因的表达。请自行确定适合检测时间。

4. 稳转筛选 (可选)

转染 24 h 后, 将细胞传代至新鲜的生长培养基中 (将细胞稀释 10 倍以上), 37 °C, 5% CO₂ 培养箱孵育过夜。第二天加入与转染抗性基因相匹配的筛选药物。约 1~2 周可筛选到耐药性克隆, 在这期间需经常更换含筛选药物的生长培养基。



不同细胞培养容器转染用量

培养皿	表面积 (cm ²)	DNA 的量 (μg)	转染试剂的量 (μL)	稀释液体积 (μL)	培养基总量
96 孔板	0.3	0.1	0.1	10	100 μL
48 孔板	0.7	0.2	0.3	20	200 μL
24 孔板	1.9	0.5	1	50	500 μL
12 孔板	3.8	1	2	50	1 mL
6 孔板	10	2	4	100	2 mL
25cm ² 培养瓶	21	4	8	200	4 mL
75cm ² 培养瓶	58	10	20	500	10 mL

注意事项

- 1) 配置好的 PEI 溶液从 -20℃ 拿出融化后，可放在 4℃ 冰箱保存，绝不可重新冻存。
- 2) 对大多数细胞来而言，每 1 μg DNA 使用 3.0 μL PEI 转染试剂都能获得较高转染效率。也可尝试每 1 μg DNA 使用 1.5~4 μL 体积线性 PEI 转染试剂进行优化。
- 3) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套及通风橱操作。
- 4) 本产品仅用于科研用途，不可用于人体。

