

微信订购: 扫一扫右侧二维码 网站订购: www.cwbio.com 服务热线: 4006-222-360



版本号: 202410V00

Polyethylenimine Linear (PEI) MW40000 线性PEI转染试剂(MW40000)

目录号: CW9309

保存条件: 常温运输, 室温2-30℃密封保存, 保质期730天; 配制后溶液2-8℃保存, 保质

期90天。

产品内容

Component	CW9309M	CW9309L
线性PEI转染试剂(MW40000)	100 mg	1 g

产品简介

PEI 40000是一种分子量为40000的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。PEI 40000是一种细胞毒性低,转染效率高的转染试剂,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、Sf9和 Hela细胞等,转染效率高达80%~90%。

PEI 40000与PEI 25000转染试剂相比, 具有显著优势:

- 1. 溶解性高: PEI 40000较易溶解,可以直接在水中溶解,而PEI 25000需要先把水调成弱酸性以助其溶解,溶解后再用NaOH把pH调至中性。
- 2. 无残留物: PEI 40000无丙酰基残留, 这意味着它更易于与DNA结合, 而PEI 25000含有 4-11%的丙酰基残留, 这些残留物可能会阻止聚合物主链与 DNA 结合。
- 3. 结构优势: PEI 40000是完全脱落的结构, 因此其性能始终高效稳定, 重复性好。
- 4. 转染效率高: PEI 40000的转染效率比PEI 25000高, 可以完全替换PEI 25000。
- 5. 操作简便: PEI 40000操作简便, 更易于使用, 且比PEI 25000的转染效果好。

操作步骤

- 1. 储存液配制 (1 mg/mL)
- 1.1 材料

PEI 40000、Milli-Q® 水/注射用水 (WFI) 或类似的生物级水、1 mol/L 氢氧化钠 (NaOH)、一次性0.1~0.2 um PES真空无菌过滤器、无菌 HDPE 或聚丙烯储存瓶。

- 1.2 配置储存液(1 mg/mL(储存液) 2-8℃保存, 有效期90天)
 - a)于1 L玻璃烧杯,将1 g PEI 40000粉末加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。
 - b) 待PEI 40000完全溶解 (通常不到 5 min)。
 - c) 用1 mol/L氢氧化钠 (NaOH)溶液调节pH为 6.80 6.90。
 - d) 将溶液转入量筒内, 并加水定容到1 L。
 - e) 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。
 - f) 根据需要分装并储存在4°C, 有效期90天。

- 2. 细胞转染操作流程(以6孔板为例)
- 2.1 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。

- 2.2 配制 DNA-PEI 核酸-转染试剂复合物
 - a) 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。
 - *无血清稀释液建议采用 Opti-MEM 或 ddH2O
 - b) 立刻向100 μL的DNA稀释液中加入4 μL的PEI 40000转染试剂, 轻轻混匀。
 - c) 在室温下孵育10~15 min, 使得形成DNA-PEI阳离子核酸转染试剂复合物。

2.3 转染细胞

- a) 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。
- b) 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。
- c) 37°C, 5% CO₂培养箱培养, 转染后最快5 h即可检测到转入基因的表达。检测时间根据实验需求进行选择。

2.4 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 $^{\circ}$ 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:

细胞培养容器	表面积	稀释液体积	DNA用量	转染试剂用量	培养基总量
96-well	0.3cm ²	10 μL	0.1 μg	0.1 μL	100 μL
48-well	0.7cm ²	20 μL	0.2 μg	0.3 μL	200 μL
24-well	1.9cm ²	50 μL	0.5 μg	1 μL	500 μL
12-well	3.8cm ²	50 μL	1 μg	2 μL	1 mL
6-well/35mm-dish	10cm²	100 μL	2 μg	4 μL	2 mL
60mm-dish/T25-flask	21cm²	200 μL	4 μg	8 μL	4 mL
100mm-dish/T75-flask	58cm²	500 μL	10 μg	20 μL	10 mL

注意事项

- 1. 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。
- 2. 本产品仅用于科研用途,不可用于人体。

-3-

本产品仅供科研使用、请勿用于临床诊断及其他用途