

TransIntro® PEI Transfection Reagent (GMP Grade)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FT401

版本号: Version 2.0

保存: 2-8°C保存一年。

产品说明

TransIntro® PEI Transfection Reagent是一种以40 kDa线性化聚乙烯亚胺 (Linear Polyethylenimine, PEI) 为基础改造的高电荷阳离子聚合物, 可以有效地结合带负电荷的DNA分子, 形成DNA-PEI复合物, 并吸附到带负电荷的细胞膜表面, 经过细胞内吞作用导入到真核细胞中。本产品按照GMP标准生产和管理, 不含动物源性成分, 毒性小、转染效率高、操作简便, 适用于HEK-293等细胞系的DNA转染以及多质粒共转染, 可用于大规模重组蛋白的表达和病毒生产领域。

特点

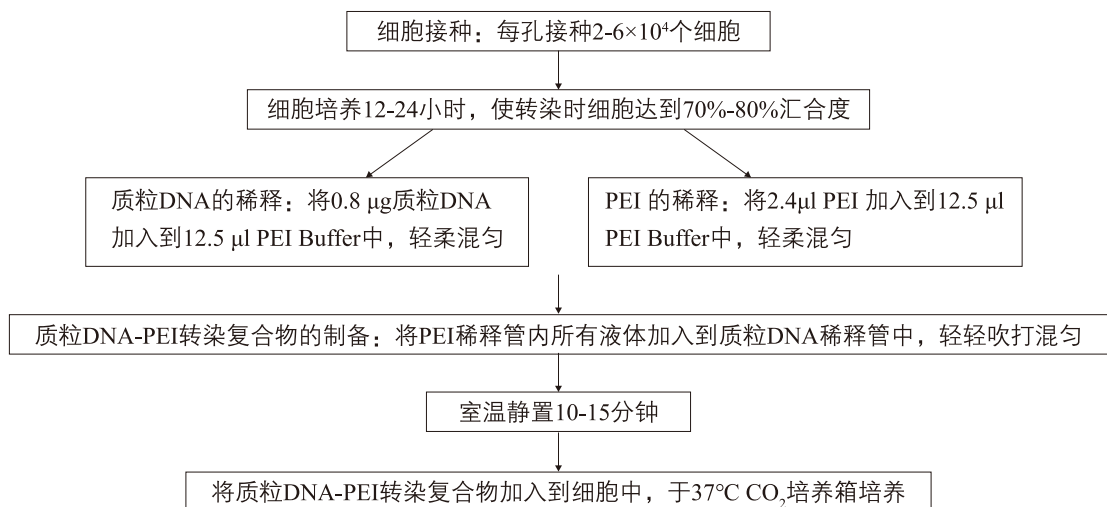
- 应用范围广: 本产品适合于HEK-293等多种贴壁或悬浮细胞的瞬时转染和稳定转染。
- 转染效率高: 适用于质粒DNA的高效转染, HEK-293的转染效率大于90%。
- 毒性低: 转染贴壁细胞形态良好, 转染悬浮细胞24小时细胞活率大于90%。
- 操作简便: 转染前后无需换液, 可带抗生素和血清转染。
- 按照GMP标准生产和管理。

试剂盒组成

| 产品组成 | FT401-01 | FT401-02 |
|---|----------|----------|
| Linear Polyethylenimine (PEI) | 1 ml | 10 ml |
| Linear Polyethylenimine Buffer (PEI Buffer) | 20 ml | 200 ml |

质粒DNA的转染

贴壁细胞转染: 以转染24孔板HEK-293细胞为例, 步骤如下:



悬浮细胞转染: 以转染100 ml HEK-293悬浮细胞为例, 步骤如下:

1、转染前细胞的准备:

- (1) 将HEK-293细胞复苏后置于37°C CO₂恒温摇床中培养, 传代3次以上以恢复细胞状态;
- (2) 将HEK-293细胞以3-5×10⁵ cells/ml的密度接种, 继续培养, 当细胞处于对数生长期 (一般2-3×10⁶ cells/ml) 且细胞活率大于98%时开始转染。

2、细胞转染:

2.1 转染体系各组分用量建议:

- a. PEI Buffer用量为细胞培养体积的1/20。
- b. DNA用量 (μg) = 细胞密度 (cells/ml) ÷ 10⁶ × 培养体积 (ml) × 0.45
- c. PEI用量: PEI (μl) : DNA (μg) = 3:1

以培养液体积100 ml, 细胞密度2.0×10⁶ cells/ml为例, 计算如下:

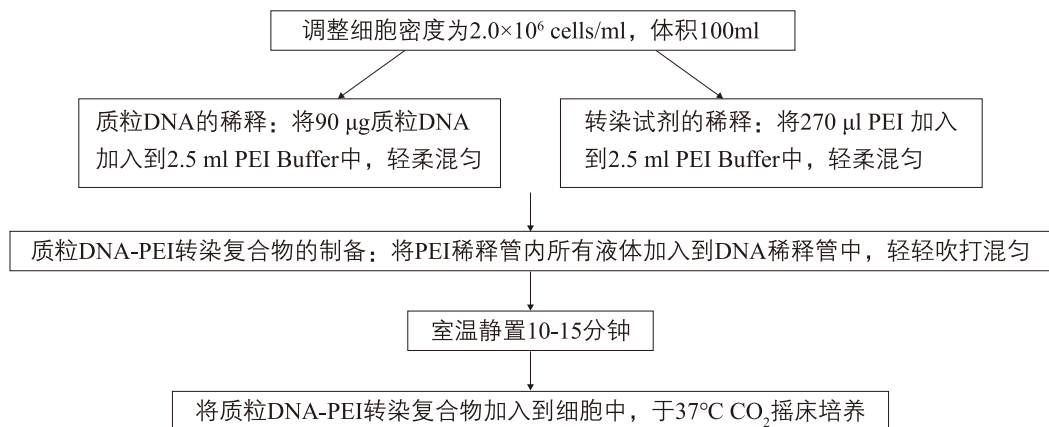
PEI Buffer用量: 100/20=5 ml

DNA用量: 2.0×10⁶ ÷ 10⁶ × 100 × 0.45 = 90 μg

PEI用量: 90×3=270 μl

2.2 转染操作:

HEK-293细胞以5×10⁵ cells/ml的密度接种, 培养2天后细胞细胞密度约2-3×10⁶ cells/ml且细胞活率大于98%时开始转染, 步骤如下:



后续实验

- (1) 若转染荧光质粒DNA, 转染后24-48小时即可采用流式细胞仪或荧光显微镜检测荧光。
- (2) 对于悬浮细胞, 若瞬时转染过表达质粒DNA, 转染后24小时左右可添加适量的补料培养基增强蛋白表达水平。
- (3) 若稳定转染质粒DNA, 转染后24-48小时可添加适量的药物进行药物筛选。

转染后细胞状态差或转染效率偏低的原因排查

- (1) 转染当天细胞状态是否良好 (转染前3代倍增时间稳定。若为悬浮培养细胞则需形态规则且结团率低, 细胞活率大于98%, 细胞密度达到2-3×10⁶ cells/ml; 若为贴壁细胞则需形态正常, 汇合度约70%-80%左右进行转染) 。
- (2) 悬浮细胞细胞密度计数是否准确, 贴壁细胞汇合度判断是否合适。
- (3) 转染用质粒DNA是否合格 (浓度大于200 μg/ml, A260/280在1.8-2.0之间, 内毒素小于1 EU/μg) 。
- (4) 转染各组分添加量是否计算准确且正确添加。
- (5) 若上述事项均确认无误, 悬浮细胞转染可以考虑优化转染时质粒DNA和PEI比例以及转染前细胞密度, 建议质粒DNA和PEI的优化比例为1:2-1:5, 转染前细胞密度为2-3×10⁶ cells/ml; 贴壁细胞转染可以考虑降低质粒DNA和相应PEI用量, 或降低质粒DNA和PEI比例 (建议优化比例范围为1:2-1:5) 。



注意事项

- PEI转染试剂是透明的溶液，使用前若有晶体析出，请于60-80°C水浴加热溶解后使用。
- 用于转染的质粒DNA浓度应大于200 µg/ml，A260/280在1.8-2.0之间，内毒素小于1 EU/µg。
- PEI-DNA转染复合物形成后，请勿吹打或剧烈摇晃。
- PEI-DNA转染复合物要缓慢加入细胞中，边加边轻轻摇晃。

不同细胞培养板转染贴壁细胞时培养基、质粒DNA和PEI用量（仅供参考）

| 细胞培养板 | 单孔面积 (cm ²) | 铺板培养基用量 (ml) | DNA用量 (µg) | PEI用量 (µl) | PEI Buffer用量 (µl) |
|---------|----------------------------|-----------------|---------------|---------------|----------------------|
| 96-well | 0.3 | 0.1 | 0.2 | 0.3-0.8 | 5 |
| 48-well | 1 | 0.25 | 0.4 | 0.6-1.6 | 13 |
| 24-well | 2 | 0.5 | 0.8 | 1.2-3.2 | 25 |
| 12-well | 4 | 1.0 | 1.6 | 2.4-6.4 | 50 |
| 6-well | 10 | 2.0 | 4.0 | 6-16 | 100 |
| 35 mm | 10 | 2.0 | 4.0 | 6-16 | 100 |
| 60 mm | 20 | 5.0 | 8.0 | 12-32 | 250 |
| 10 cm | 60 | 10 | 24 | 24-72 | 500 |
| T 25 | 25 | 6.0 | 10 | 10-30 | 300 |
| T 75 | 75 | 20 | 30 | 30-90 | 1000 |

悬浮细胞不同细胞密度转染试剂建议用量（以在500 ml摇瓶中转染100 ml HEK-293悬浮细胞为例，仅供参考）

| 细胞密度 (10 ⁶ cells/ml) | DNA用量 (µg) | PEI用量 (µl) | PEI Buffer用量 (ml) |
|---------------------------------|------------|------------|-------------------|
| 2.0 | 90 | 270 | 5 |
| 2.2 | 99 | 297 | 5 |
| 2.4 | 108 | 324 | 5 |
| 2.6 | 117 | 351 | 5 |
| 2.8 | 126 | 378 | 5 |
| 3.0 | 135 | 405 | 5 |

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202307

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

