



Polyethylenimine Linear (PEI) MW40000

线性PEI转染试剂 (MW40000)

目录号: ME-MB0377

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	ME-MB0377	ME-MB0377
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 μm 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°C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，在磁力搅拌器上搅拌均匀。
- 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 μ L无血清培养基稀释2 μ g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 μ L的DNA稀释液中加入4 μ L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 μ L DNA-PEI核酸-PEI复合物加入细胞中, 摇动培养板, 轻轻混匀。

c) 37 $^{\circ}$ 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 μ L	0.1 μ g	0.1 μ L	100 μ L
48-well	0.7cm ²	20 μ L	0.2 μ g	0.3 μ L	200 μ L
24-well	1.9cm ²	50 μ L	0.5 μ g	1 μ L	500 μ L
12-well	3.8cm ²	50 μ L	1 μ g	2 μ L	1 mL
6-well/35mm-dish	10cm ²	100 μ L	2 μ g	4 μ L	2 mL
60mm-dish/T25-flask	21cm ²	200 μ L	4 μ g	8 μ L	4 mL
100mm-dish/T75-flask	58cm ²	500 μ L	10 μ g	20 μ L	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。