



支化PEI转染试剂 (MW25000)

货号: R43370

储存条件: -20° C;避免反复冻融

有效期: 36个月

产品简介:

PEI 是基因转染中常用的高分子载体,同时也是基因转染的“金标准”。PEI 转染的原理是带正电的阳离子聚合物与核酸中带负电的磷酸基团形成带正电的复合物后,再与细胞表面带负电的蛋白多糖相互作用,通过细胞胞吞进入细胞。PEI 主链上每三个原子就含有一个氮原子,因此具有较高的阳离子密度,这对于结合带负电荷的核酸分子是非常有利的。在生理pH条件下,PEI 部分氨基被质子化,随着体系 pH 值的降低,PEI 剩余的氨基被质子化,从而赋予了其出色的核酸结合能力和质子缓冲能力,有利于通过质子海绵效应从内涵体逃逸。但是,PEI 高的阳离子电荷密度,导致其严重的细胞毒性。同时,PEI 25K 含有 4%-11%的残留丙酰基,这可能阻碍聚合物主链与 DNA 的有效结合,影响基因转染效率。因此,针对PEI 的研究工作主要聚焦在通过功能化修饰以及脱丙酰基,来提高转染效率、降低细胞毒性。支化 PEI 转染试剂 (MW25000)(Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000))是一种基于分子量 25 kDa PEI 的 DNA 转染试剂。通过对 PEI 进行功能改性,NEO-PEI 丙酰基完全脱落,显著改善了 PEI 的基因递送性能,表现出较好的稳定性和较低的细胞毒性。

Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 与 PEI 25000 转染试剂相比, 有很多优点。包括:

(1) Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 为即用型转染试剂,无需配制,可直接用于细胞转染实验,而PEI 25000需要先把水调成弱酸性助其溶解,溶解后再用NaOH把 pH 调至中性,配制过程繁琐复杂,容易引入误差导致转染效果不稳定。PEI 40000虽然较 PEI 25000 更易溶解,但也同样存在配制繁琐,配制过程中容易引入误差的风险。



(2) PEI 25000 含有 4%-11% 的丙酰基残留, 丙酰基会阻止聚合物主链与 DNA 结合, 影响转染效果。相较于 PEI 25000, Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 丙酰基完全脱落, 因此其性能始终高效如一。

Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 是一种功能强大、值得信赖且经济实惠的瞬时转染试剂, 广泛适用于多种细胞系, 包括 HEK-293、HEK-293T、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3、Sf9、HepG2 和 HeLa 细胞等。同时, Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 在大规模重组蛋白表达和病毒生产等领域有着高效、低毒、稳定、可靠等显著优势。Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 提供从 96 孔板到 200L 生物反应器持续的高表达转染体系, 实现从新药研发到工业化生产的轻松过渡。与大多数细胞转染方案相比, 使用 Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 既能得到稳定的基因表达效率, 又可显著降低转染成本。

产品特点

- * 易于使用——即用型转染试剂, 无需配制, 可直接用于细胞转染实验。
- * 转染效率高——针对多种类型细胞, 均表现出优秀的转染效率和高重组蛋白表达。
- * 细胞毒性低——作用温和, 能更好地实现高转染效率与低细胞毒性之间的平衡。
- * 性能更稳定——丙酰基完全脱落, 性能始终高效如一。
- * 高性价比——既能得到稳定的基因表达效率, 又可显著降低转染成本。
- * 化学成分明确, 不含动物来源成分。

适用范围

Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 广泛适用于多种细胞系的 DNA 转染, 可应用于大规模重组蛋白表达和病毒生产等领域。本试剂提供从 96 孔板到 200L 生物反应器持续的高表达转染体系, 实现从新药研发到工业化生产的轻松过渡。

实验流程概要

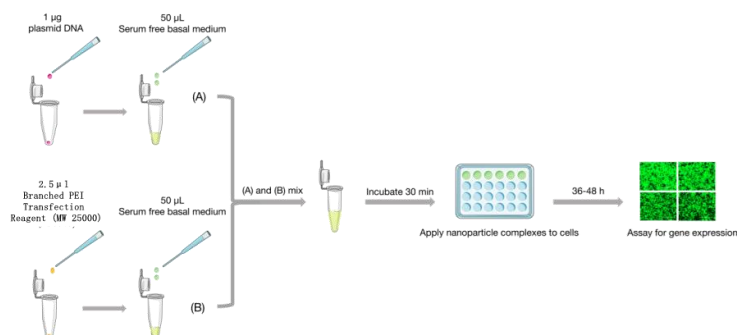


图 1. Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 转染实验流程图

实验步骤: (以 24 孔板为例, 其他培养板加样体积参考表一: 转染量度标准)

1. 准备待转染细胞

(1) 贴壁细胞: 转染前一天, 将胰酶消化后的细胞按照每孔 $0.5\text{-}1.5 \times 10^5$ 个细胞的量进行铺板, 使其在转染时密度为 50% 左右。

(2) 悬浮细胞: 转染当天, 配制转染试剂-核酸复合物之前, 在 24 孔板中进行细胞铺板, 每 500 μL 生长培养基中加入 $1\text{-}3 \times 10^5$ 个细胞。

* 细胞状态会极大影响转染效率, 待转染细胞应处于良好生长状态, 建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染。

2. 准备转染试剂-核酸复合物

(1) 取 1 μg 质粒加入到 1.5 mL 离心管中, 往管中加入 50 μL 无血清基础培养基(与培养体系一致, 无血清), 轻轻混匀, 标记为“A”。

(2) 取 2.5 μL *转染试剂加入到另一个 1.5 mL 离心管中, 往管中加入 50 μL 无血清基础培养基(与培养体系一致, 无血清), 轻轻混匀, 标记为“B”。

* 转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响, 通常情况下, DNA(μg)和转染试剂(μL)的推荐使用比例为 1:2.5。建议初次使用时, 可在 1:1-1:5 的比例范围内设置梯度进行预实验, 以达到最优转染效果。

(3) 将“A”和“B”轻轻混合均匀(总体积为 100 μL), 在室温下静置 30 分钟, 形成转染试剂-核酸复合物。

* 转染试剂-核酸复合物在室温下 4 个小时内保持稳定。

3. 细胞转染



从培养箱中取出细胞，将上述 100 μL 转染试剂-核酸复合物加入每孔细胞，将细胞放回培养箱中继续培养。

4. 分析转染细胞

转染细胞培养 36-48 小时后，可根据实际情况用荧光检测法、Western Blot、RT-PCR、ELISA、流式细胞术、报告基因等检测转染效果，或加入筛选药物进行稳定细胞株的筛选。

表一：转染量度标准

细胞培养装置规格	培养体系 (mL)	DNA (μg)	转染试剂 (μL)	无血清基础培养基体积 (μL)
96 孔板	0.1	0.2	0.5	10
24 孔板	0.5	1	2.5	50
12 孔板	1	2	5	100
6 孔板	2	2-4	5-10	200
60mm 皿	4	3-5	7.5-12.5	400
100mm 皿	10	5-10	12.5-25	1000
125mL 摇瓶	30-35	30-35	75-87.5	3000
500mL 摇瓶	120-140	120-140	300-350	12000
1000mL 摇瓶	240-280	240-280	600-700	24000

注意事项

- 核酸质量：**想要获得最高的转染效率和最低的细胞毒性，应选用高纯度、无菌、无污染、无内毒素的优质核酸。质粒中的内毒素是转染的大敌，内毒素会导致转染效率显著下降，特别是对内毒素敏感的细胞，例如原代细胞、悬浮细胞、造血细胞等。推荐使用无内毒素质粒抽提试剂盒进行质粒提取，保证质粒 A260/A280 比值为 1.8-2.0。同时，需合理计算质粒用量，转染过量的质粒可能会导致细胞毒性甚至死亡。
- 细胞质量：**细胞状态会极大影响转染效率，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90%的细胞进行转染。
- 细胞密度：**建议细胞传代后 12-24 小时内、细胞密度约为 50%时进行转染。不同的细胞转染实验，对细胞密度的要求不尽相同。在进行不同核酸或不同细胞系的



转染时, 需要根据说明书优化实验条件。此外, 在实验过程中应保证相同的接种条件, 确保实验数据的可重复性。

4. 质粒与转染试剂的使用比例: 对于大多数细胞系, 转染复合物中DNA(μg)与转染试剂(μL)的比例在 1:1 至 1:5 之间, 推荐比例为 1:2.5。想要获得最优的转染结果, 需要对这一比例进行优化, 根据所转染细胞及质粒选择适合的转染比例。

5. Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 可用于有血清培养基的转染, 转染后不需要去除复合物或换培养基。但是, 制备转染复合物时要求用无血清基础培养基稀释DNA 和转染试剂, 因为血清会影响复合物的形成。

6. 由于一些特殊培养基中的某些成分可能会抑制阳离子聚合物介导的转染, 因此有必要检测特殊培养基与该产品的相容性。

7. 为了您的健康安全, 请规范操作, 穿戴实验服与手套开展实验。

8. 本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及治疗。

实验案例分析

1. 转染前一天, 将图 2 所示 3 种状态良好的细胞接种于 24 孔板, 使其在转染时密度约为50%。

2. 按照每孔计量, 取 $1\mu\text{g}$ GFP 质粒加入到 1.5 mL 离心管中, 加入 $50\mu\text{L}$ 无血清基础 DMEM培养基稀释质粒, 标记为 A。取 $2.5\mu\text{L}$ 转染试剂(图 2 上)或某 P 公司产品PEI(图 2 下)加入到另一个 1.5 mL 离心管中, 加入 $50\mu\text{L}$ 无血清基础 DMEM 培养基稀释转染试剂, 标记为 B。将 A 和 B 轻轻混合均匀, 室温静置 30 分钟, 形成转染试剂-核酸复合物。

3. 30 分钟后, 从培养箱中取出细胞, 往细胞中加入上述 $100\mu\text{L}$ 转染试剂-核酸复合物, 将细胞放回培养箱中继续培养。

4. 转染细胞培养 48 小时后, 用荧光显微镜检测 GFP 绿色荧光蛋白表达情况, 并拍照记录, 实验结果如图 2 所示。

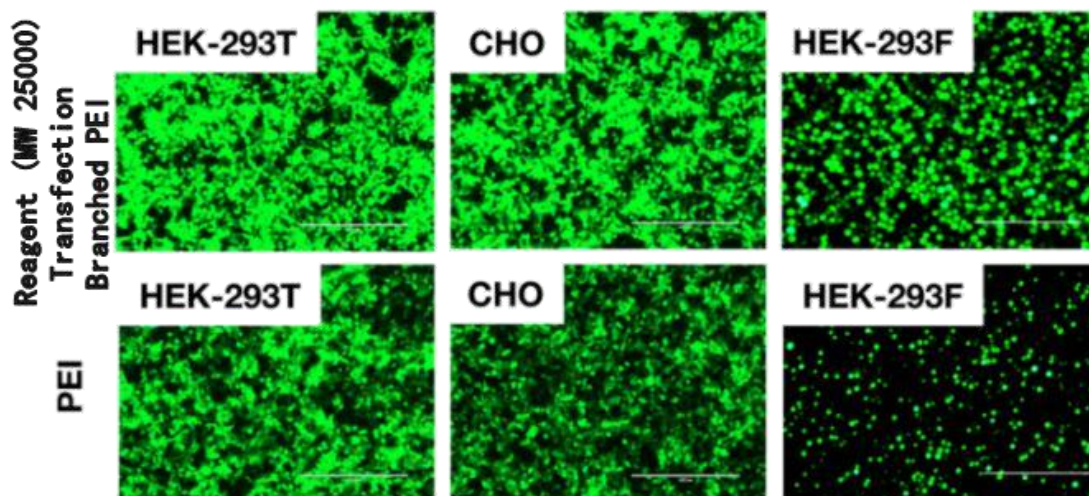


图 2. 采用 Branched PEI Transfection Reagent (MW 25000) 及某 P 公司品牌 PEI 转染 GFP 质粒，转染 48 小时后，采用荧光显微镜检测 GFP 绿色荧光蛋白表达情况，本产品表现出更优秀的转染效率。