

Polyethylenimine Linear(PEI), MW40000

产品描述

线性化聚乙烯亚胺PEI（分子量40000）是一种高电荷阳离子聚合物，非常容易与DNA或其他带负电荷生物大分子相互结合，使之成为常见的行之有效的细胞转染试剂。原理上PEI能将DNA缩合成带正电荷的复合物，黏附在带有负电荷的细胞表面残基上，之后通过胞吞作用进入细胞。进入细胞后，胺的质子化导致反离子大量涌入以及渗透势降低，引起渗透膨胀使囊泡释放复合物进入细胞质内。最终复合物拆解，DNA就能自由的融合到细胞核中。

该转染试剂作为一种瞬时转染试剂，具有效率高、成本低、相对稳定等优点，目前已经验证广泛适用于多种常见细胞系包括HEK-293、HEK293T、CHO-K1、HepG2和Hela细胞的转染等。在HEK293和CHO细胞表达系统中，PEI在不同规模（从96孔板到100 L生物反应器）的转染中均能提供很好的转染效果。

组分和储存条件

Size	4 mL (2.5 mg/mL)	8 mL (2.5 mg/mL)
Components		
PEI-2.5 mg/mL	4 mL	8 mL
2X Transfection Buffer	3 mL	6 mL

Store the components at 4 °C.

使用方法

以6孔板一孔为例，如果转染器皿不同，请按比例自行调节用量。

1. 接种细胞

转染前一天进行细胞计数铺板，每孔接种 $(7-8) \times 10^5$ 细胞为宜，待细胞密度为70-90%开始进行转染。

2. 制备 DNA-PEI 复合物

- 先用 ddH₂O 将 2X Transfection Buffer 稀释为 1X，然后用 1X Transfection Buffer 将 2.5 mg/mL PEI 稀释至 1 mg/mL 备用。
- 使用无血清培养液，按照 DNA 质粒 (μg) : PEI (μL) 为 3:8 的比例分别配置 A、B 工作液各 62.5 μL 。例如转染 3 μg 质粒，则取 3 μg 质粒加培养液至 62.5 μL 配成 A 液，取 8 μL PEI (1 mg/mL) 加培养液至 62.5 μL 配成 B 液。注意每孔质粒加入量应该控制到 1-5 μg 之间。
- A、B 液在室温先静置 5 min，然后将 B 液加入 A 液中（注意请勿颠倒添加顺序），轻旋混匀

后静置 15 min，以形成 DNA-PEI 转染复合物。

3. 转染细胞

- 1) 转染前 30-60 min 去除细胞培养基，更换 2 mL 新鲜预热培养基，然后向每孔中加入上述 DNA-PEI 转染复合物，轻晃培养板混匀。
- 2) 置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱继续培养 24 h 通常可检测到转入基因表达。

4. 稳转筛选（可选）

- 1) 可在转染 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），然后在 5% CO₂ 培养箱 37 °C 孵育过夜。
- 2) 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。

■ 注意事项

1. 对于某些类型的细胞如 HEK-293、HEK293T、NIH/3T3 和 COS 细胞，在转染前两天铺板，可显著提高转入基因的表达水平。如果选择转染前两天铺板，可适当降低铺板密度，以确保转染时细胞的密度仍为 70-90%。
2. DNA-PEI 复合物必须在无蛋白存在的条件下形成，须采用无血清试剂对 DNA、PEI 稀释，推荐使用 Opti-MEM 培养基以达到最佳转染效率。
3. 本试剂盒对多数细胞按照 3:8 的 DNA、PEI 比例都能获得较高转染效率。使用者也可根据情况适当调整。另外对于接触抑制敏感的细胞，可适当降低铺板密度。
4. 本产品仅用于科研用途，不可用于人体。



APEX-BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com

Tel: 021-55669583; Fax: 021-55669583

<http://www.apexbio.cn/>; Email: sales@apexbio.cn.