

Polyethylenimine Linear (PEI) MW40000

线性 PEI 转染试剂 MW40000

产品编号	产品名称	包装规格
NBS4000-100mg	线性 PEI 转染试剂 MW40000	100mg
NBS4000-500mg	线性 PEI 转染试剂 MW40000	500mg
NBS4000-1g	线性 PEI 转染试剂 MW40000	1g
NBS4000-5g	线性 PEI 转染试剂 MW40000	5g
NBS4000-1ml	线性 PEI 转染试剂 MW40000	1ml
NBS4000-10ml	线性 PEI 转染试剂 MW40000	10ml
NBS4000-50ml	线性 PEI 转染试剂 MW40000	50ml

产品简介:

Polyethylenimine Linear (PEI) 溶液是由一种阳离子聚合物转染试剂, 结构可以写成是 $-(CH_2CH_2NH)_n-$, PEI 能将 DNA 包裹成带正电荷的微粒, 这些微粒可以黏合到带有负电荷的细胞表面残基, 并通过胞吞作用进入细胞。一旦进入细胞, 胺的质子化导致反离子大量涌入以及渗透势降低, 在低 pH 环境中实现 DNA 胞内释放。PEI 上未质子化的胺可以在与膜结合的细胞器 (如溶酶体) 中吸收氢离子, 这将导致更多氢离子的流入, 诱发渗透溶胀。而质子化胺之间的排斥引起 PEI 构象的改变, 上述变化导致的渗透膨胀使囊泡释放聚合物与 DNA 形成的复合物进入细胞质。复合物拆解后, DNA 能自由的融合到细胞核中。

应用最广泛的主要有 PEI 25000 与 PEI 40000 (也有称 PEIMAX), 对大多数培养细胞都有较高的转染效率(用于常见细胞系, 如 HEK-293、HEK293T、HepG2、Hela、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3 和 Sf9 等), 并且细胞毒性较低。。PEI 40000 与 PEI 25000 转染试剂相比, 具有很多优点。两者区别: 1) PEI 25000 转染溶液通常需要几个小时才能制备, PEI 25000 含有 4-11%的残余乙酰基, 可防止聚合物主链与 DNA 强烈结合。2) PEI 40000 完全水解(完全去乙酰化的结构意味着每批产品的表现始终如), 可以在两个小时内转化为即用型溶液。3)PEI 40000 比 PEI 25000 更易于使用, 并且更高效, 含更长连续性乙烯亚胺片段, 其质子化氮水平比 PEI 25000 提高 11%以上。

本品是 PEI 40K 的无菌溶液, 浓度为 1mg/ml, 直接使用即可。

保存条件:

粉末室温保存, 2 年有效。

溶液 2-8°C 保存, 1 年有效。

产品使用 (以 6 孔板为例)**1. 细胞铺板**

提前一天将细胞种植在六孔板中, 以转染时细胞密度在 70%~80%为宜。

2. 转染过程

- 1) 在转染前 2h, 移除细胞上原有的培养基, 换为新鲜的完全培养基。
- 2) 将 2ug 质粒 DNA 用 100uL 无血清稀释液稀释, 充分混匀制成 DNA 稀释液。
注意: 无血清稀释液建议采用 Opti-MEM 或 ddH₂O。
- 3) 向 DNA 稀释液中直接加入 4uL 转染试剂, 室温静置 10~15min。转染复合物配制完成。
- 4) 将转染复合物加入细胞培养基中, 轻柔混匀。
- 5) 继续培养 24~48h, 收取细胞进行鉴定或加入相应抗生素筛选稳定克隆。
- 6) 使用本产品转染后一般在 24h 开始进入表达高峰期, 36~48h 达到表达高峰, 相对于脂质体转染试剂, 达到峰值的时间延后约 6~12h。

不同细胞培养容器转染用量:

细胞培养容器	表面积(cm ²)	稀释液体积	DNA 的量	转染试剂的量	培养基总量
96 孔板	0.3	10μL	0.1μg	0.1μL	100μL
48 孔板	0.7	20μL	0.2μg	0.3μL	200μL
24 孔板	1.9	50μL	0.5μg	1μL	500μL
12 孔板	3.8	50μL	1μg	2μL	1ml
6 孔板/35mm 皿	10	100μL	2μg	4μL	2ml
60mm 皿/T25	21	200μL	4μg	8μL	4ml
100mm 皿/T75	58	500μL	10μg	20μL	10ml

不同细胞系参考数据 (以 6 孔板为例) (数据仅供参考)

细胞	培养体系	细胞汇合度	DNA 的量	转染试剂(PEI)的量
293H	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.2 μ L
293FT	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
293F	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
HepG2	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
Hela	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
COS7	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
RAW264.7	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
A549	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
NIH/3T3	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.9 μ L
MDCK	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	1 μ L
Vero	DMEN	70%~80%	0.2 μ g	0.9 μ L
CaCO2	MEN	70%~80%	0.2 μ g	0.9 μ L
BHK21	MEN	70%~80%	0.2 μ g	0.6 μ L
SW480	IMDM	70%~80%	0.2 μ g	1 μ L
sf9	SIM SF	70%~80%	0.2 μ g	0.9 μ L

线性 PEI 溶液的配制方法:

下面分别推荐一种简单适用而高效的方法, 讲述如何配制浓度为 1mg/mL 的转染试剂的配制。

提前准备器材:

1L 玻璃烧杯、1L 玻璃量筒、pH 计、移液器、磁力搅拌棒、带油管的真空泵、1g 的 PEI 25000 或者 1g 的 PEI 40000、1L 纯水(Milli-Q@纯水, 注射用水(WFI), 或类似的生物级水)、1N 氢氧化钠、25mL 无菌塑料吸管、一次性 0.1 μ m, 0.2 μ m, 0.22 μ m PES 真空无菌过滤器、无菌高聚乙烯或聚丙烯试剂瓶。

配制过程:

1g 的 PEI 25000→900mL 水溶解→搅拌、加热 (60-80°C) →加 HCl 调 pH 到 2.0 左右→盖上烧杯, 搅拌 3h (直至粉末完全溶解) →冷却至室温→加 NaOH 调 pH 到 6.9-7.1→移液到量筒, 加水补足至 1L→真空过滤消毒→分装, -20°C 保存。

1g 的 PEI 40000→900mL 水→溶解搅拌、加热(60-80°C)→加 1N NaOH 调 pH 到 6.9-7.1→移液到量筒, 加水补足至 1L→真空过滤消毒→分装, 4°C 保存。

注意: 加热或加酸都有助于 PEI 溶解 (特别是配制 PEI 25000, 只加热溶解不了, 需要适当加酸的), 详细用量可试加一点搅拌看看, 足够溶解就行, 不一定需要加到 pH 那么低。

转染液贮存和保存期:

分装存放在无菌高聚乙烯或聚丙烯试剂瓶中

PEI 25000 溶液可在-20°C 保存长达一年, 部分解冻的溶液可在 4°C 保存 2 周, 不可反复冻融。

PEI 40000 转染溶液在 4°C 可保持其性能至少 6 个月效果最佳, 稳定存放此溶液可能适用一年。不可反复冻融。

注意事项:

1. 本品为无菌溶液, 请操作过程中执行无菌操作。
2. 本产品对细胞非常温和, 一般情况下转染后无需进行换液操作。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其它用途!