线性 PEI 转染试剂 MW40000
Polyethylenimine Linear (PEI) 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 40000，PEIMAX）为阳离子聚合物类转染试剂，化学结构为-$(CH_2CH_2NH)_n$-。PEI 可包裹 DNA 形成带正电荷微粒，微粒结合细胞膜表面带负电残基，经胞吞作用进入细胞。进入胞内后，氨基发生质子化，促使反离子大量涌入、改变渗透势，在酸性环境下实现 DNA 的胞内释放。PEI 未质子化的氨基可在溶酶体等膜包被细胞器中捕获氢离子，引发氢离子持续内流，诱发渗透溶胀；同时质子化氨基之间的静电排斥改变 PEI 构象，囊泡发生渗透膨胀，将 PEI-DNA 复合物释放至细胞质。复合物解离后，DNA 可转运进入细胞核。

PEI 40000 为完全水解、完全去乙酰化结构，批次间性能稳定；拥有更长的连续乙烯亚胺片段，质子化氮水平高，转染效率优异。本品提供粉末与溶液两种剂型：粉末可于 2 h 内配制成即用型工作液，操作简便；溶液剂型浓度为 1 mg/mL，经无菌过滤处理，开瓶即可直接使用。

本品细胞毒性低，对多种培养细胞均有较高转染效率，适用于 HEK-293、HEK293T、HepG2、Hela、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3、Sf9 等常见细胞系。如果您使用敏感细胞系，需要更温和的 DNA 结合特性，建议选择我司产品 PEI 25000（货号 NBS2500）。

保存条件：

粉末：室温保存（两年有效）

溶液：4℃保存（一年有效）

产品使用：

一、 贴壁细胞转染（以 6 孔板为例）：

1. 转染前准备

转染前一日接种细胞至 6 孔板，转染时细胞汇合度建议为 70%-80%。常规细胞培养 18–24 h 后进行转染，Sf9 细胞仅需培养 3–4 h 即可转染。转染前 2 h，弃去原有细胞培养基，更换新鲜完全培养基。

2. DNA-PEI 复合物制备

实验前将 DNA、PEI 转染试剂及稀释液恢复至室温。采用 Opti-MEM 或其他适配的无血清培养基分别稀释质粒 DNA 与 PEI 试剂，配比标准为每 1 μg DNA 对应 3 μL 线性 PEI 转染试剂。轻柔涡旋 DNA 稀释液的同时，将稀释后的 PEI 试剂逐滴加入其中，严禁颠倒加样顺序。充分混匀后，室温静置 10–25 min，完成 DNA-PEI 复合物组装。若配制体系体积较大，建议使用 5 mL、14 mL 等圆底聚丙烯离心管进行操作。

3. 细胞转染

将制备完成的 DNA-PEI 复合物逐孔加入培养体系中，轻柔晃动培养板/培养皿混匀。常规细胞转染 4–6 h 后更换新鲜生长培养基，Sf9 细胞转染 2 h 后即可换液。

4. 细胞孵育与结果检测

将细胞置于 37 ℃ CO_2 培养箱中持续孵育，待后续检测分析。本品转染后 24 h 起基因表达逐步升高，36-48 h 达到表达峰值；相较于脂质体类转染试剂，表达峰值延后约 6-12 h，最佳检测时间可根据实验需求自主优化确定。

5. 稳定细胞株筛选

转染 48-72 h 后，将细胞按适宜比例稀释传代至新鲜生长培养基，置于 37 ℃ CO_2 培养箱孵育过夜；次日加入与载体抗性基因匹配的筛选药物进行筛选。筛选期间定期更换含筛选药物的新鲜生长培养基，持续培养 1-2 周可获得耐药细胞混合池；若需获得单克隆细胞，还需进一步采用有限稀释法等开展单克隆分选。

注：①筛选前必须完成药物杀伤曲线测定，确定最佳筛选浓度；②PEI40000 转染后细胞可能存在短暂毒性应激，待细胞状态恢复后再启动药物筛选；③不要在转染后过早施加筛选压力，避免杀死尚未完成基因组整合的阳性细胞。

二、 悬浮细胞转染：

1. 转染前准备

将悬浮细胞传代接种至适量悬浮细胞完全培养基中，置于适宜条件培养。根据培养容器规格调整细胞密度（以 100 mL 培养瓶为例，接种密度为 1×10^6 cells/mL），旋紧瓶盖后放入摇床继续培养，静置 2–4 h 后即可开展转染操作。

2. DNA-PEI 复合物制备

实验前将 DNA、PEI 转染试剂及稀释液恢复至室温。采用 Opti-MEM 或其他适配的无血清培养基分别稀释质粒 DNA 与 PEI 试剂，配比标准为每 1 μg DNA 对应 3 μL 线性 PEI 转染试剂。轻柔涡旋 DNA 稀释液的同时，将稀释后的 PEI 试剂逐滴加入其中，严禁颠倒加样顺序。充分混匀后，室温静置 10–25 min，完成 DNA-PEI 复合物组装。若配制体系体积较大，建议使用 5 mL、14 mL 等圆底聚丙烯离心管进行操作。

3. 细胞转染

将制备好的 DNA-PEI 复合物逐滴加入细胞培养液中，轻轻摇匀，旋紧培养瓶瓶盖，放回摇床，在适宜条件下继续培养，待后续检测分析。

4. 细胞孵育与结果检测

转染后 24–72 h 可检测目的基因表达，具体最佳检测时间可根据实验需求自行优化确定。

5. 蛋白高产优化方案

若需提升蛋白表达产量，可参考文献优化方案：转染 24 h 后对细胞进行适度稀释，稀释比例控制在 1:2–1:5。最佳稀释倍数及增产效果需结合具体细胞状态与实验条件摸索确定。

表 1 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	10 μL	0.1 μg	0.1 μL	100 μL
48 孔板	0.7	20 μL	0.2 μg	0.3 μL	200 μL
24 孔板	1.9	50 μL	0.5 μg	1 μL	500 μL
12 孔板	3.8	50 μL	1 μg	2 μL	1 mL
6 孔板/35 mm 皿	10	100 μL	2 μg	4 μL	2 mL

60 mm 皿/T25	21	200 µL	4 µg	8 µL	4 mL
100 mm 皿/T75	58	500 µL	10 µg	20 µL	10 mL

表 2 不同细胞系参考数据 (以 6 孔板为例):

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

三、 线性 PEI 溶液的配制方法:

1. 自备仪器及耗材:

1 L 玻璃烧杯、1 L 玻璃量筒、pH 计、移液器、磁力搅拌子、带油管真空泵; 1 L 生物级纯水 (Milli-Q 纯水、注射用水 WFI 或同等规格纯水)、1 N 氢氧化钠溶液、25 mL 无

菌塑料吸管、0.1 μm、0.2 μm、0.22 μm PES 真空无菌滤器、无菌高密度聚乙烯 / 聚丙烯试剂瓶。

2. 配制过程:

称取 1 g PEI 40000，加入 900 mL 纯水，搅拌混匀，并于 60–80 ℃加热助溶；待完全溶解后，使用 1 N NaOH 溶液调节 pH 至 6.9–7.1。将溶液转移至量筒，补加纯水定容至 1 L，经真空过滤除菌后分装，置于 4 ℃条件保存。

注: 加热或弱酸调节均可促进 PEI 溶解。尤其 PEI 25000 仅靠加热难以充分溶解，需辅以少量弱酸调节。实际配制时可少量试加、边加边搅拌，以物料完全溶解为准，无需过度调节酸碱度。

注意事项:

1. 本品溶液剂型为无菌制剂，实验操作全过程需严格遵守无菌操作规范，避免污染。
2. 本品不建议冷冻保存，以免影响试剂活性与转染效果。
3. 本品不适用于单链 RNA 转染实验。
4. 针对绝大多数细胞系，每 1 μg 质粒 DNA 搭配 3 μL PEI 40000 转染试剂，即可获得理想的转染效率；用户可根据自身细胞特性，在 1.5–4 μL/μg DNA 范围内优化最佳试剂用量。
5. 细胞转染过程中细胞膜通透性会显著提升，培养基中的抗生素易进入胞内造成细胞损伤，进而影响细胞状态与转染效率。因此，制备转染复合物前，建议将培养基更换为不含抗生素的完全培养基。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
NBS2500	线性 PEI 转染试剂 MW25000	100mg
		500mg
		1g
		5g
		1ml

		10ml
		50ml
NBS4000	线性 PEI 转染试剂 MW40000	100mg
		500mg
		1g
		5g
		1ml
		10ml
		50ml

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！