

TransIntro® PEI Transfection Reagent (GMP Grade)

PEI转染试剂 (GMP级)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FT401

版本号: Version 2.1

保存: 在2°C-8°C温度下保存一年。

产品说明

TransIntro® PEI Transfection Reagent是一种以40 kDa线性化聚乙烯亚胺 (Linear Polyethylenimine, PEI) 为基础改造的高电荷阳离子聚合物, 可以有效地结合带负电荷的DNA分子, 形成DNA-PEI复合物, 并吸附到带负电荷的细胞膜表面, 经过细胞内吞作用导入到真核细胞中。本产品按照GMP标准生产和管理, 不含动物源性成分, 毒性小、转染效率高、操作简便, 适用于HEK-293、HEK-293F、CHO-S、CHO-K1等细胞系的DNA转染以及多质粒共转染, 可用于大规模重组蛋白的表达和病毒生产领域。

特点

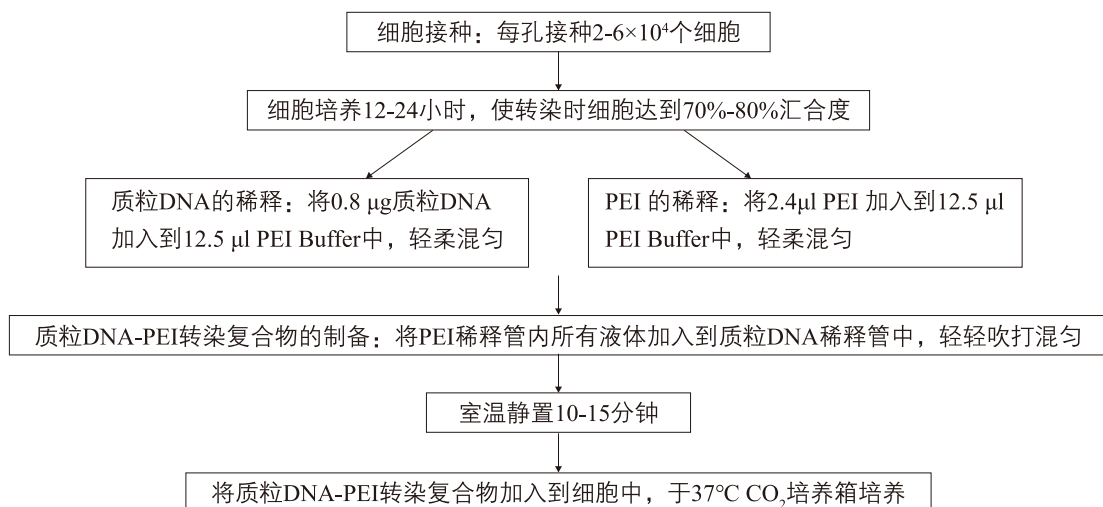
- 应用范围广: 本产品适合于HEK-293、HEK-293F、CHO-S、CHO-K1等多种贴壁或悬浮细胞的瞬时转染和稳定转染。
- 转染效率高: 适合于质粒DNA的高效转染, HEK-293、HEK-293F的转染效率大于90%, CHO-S、CHO-K1的转染效率大于80%。
- 毒性低: 转染贴壁细胞形态良好, 转染悬浮细胞的细胞活率大于90%。
- 操作简便: 转染前后无需换液, 可带抗生素和血清转染。无需冷冻保存, 取用方便。
- 按照GMP标准生产和管理。

试剂盒组成

产品组成	FT401-01	FT401-02
Polyethylenimine Linear(PEI)	1 ml	10 ml
Polyethylenimine Linear(PEI) Buffer	20 ml	200 ml

操作步骤

贴壁细胞转染: 以转染24孔板HEK-293细胞为例, 步骤如下:



悬浮细胞转染：以转染100 ml HEK-293和CHO-S悬浮细胞为例，步骤如下：

1. 转染前细胞的准备：

- (1) 将HEK-293或CHO-S细胞复苏后置于37℃ CO₂恒温摇床中培养，传代3次以上至细胞状态活率良好、倍增时间稳定。
- (2) 按照0.3-0.5×10⁶ cells/ml的密度进行细胞接种，当细胞处于对数生长期（HEK-293细胞为2-5×10⁶ cells/ml，CHO细胞为3-6×10⁶ cells/ml）且细胞活率大于98%时可以准备转染。
- (3) 转染前一天将HEK-293细胞按照1-1.5×10⁶ cells/ml或将CHO-S细胞按照2-3×10⁶ cells/ml的密度进行接种。转染当天用新鲜培养基将细胞密度调整至指定细胞密度进行转染。

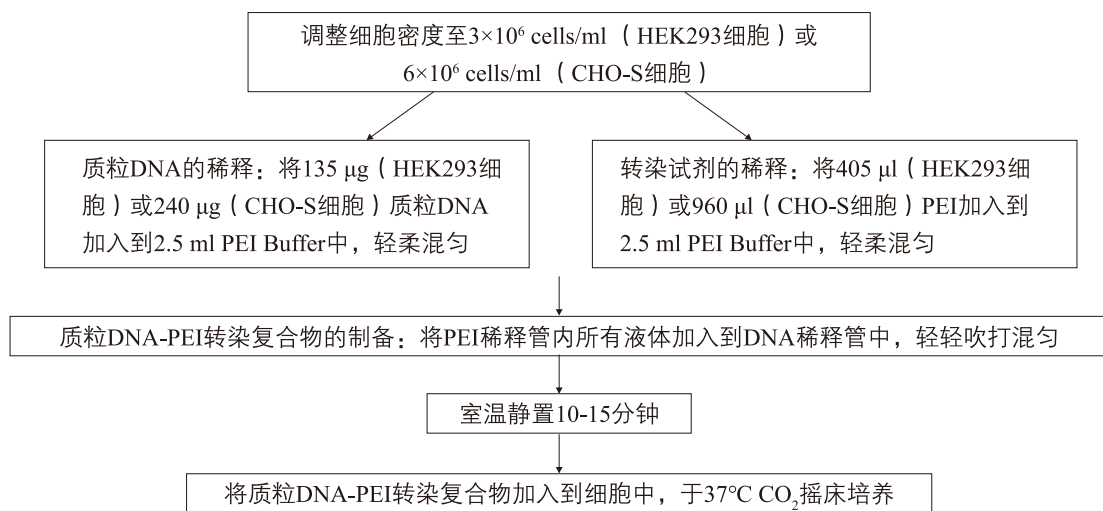
2. 细胞转染：

- (1) 转染各组分用量建议详见下表。

细胞类型	HEK-293/ HEK-293F	CHO-S/ CHO-K1
转染时细胞密度	2-3×10 ⁶ cells/ml	5-6×10 ⁶ cells/ml
PEI Buffer用量	1/20培养体积	1/20培养体积
质粒DNA用量	0.4-0.8 μg/10 ⁶ cells	0.3-0.8 μg/10 ⁶ cells
PEI与DNA比例	PEI:DNA=2:1-4:1	PEI:DNA=2:1-5:1

- (2) 转染操作：

以转染100 ml细胞密度为3×10⁶ cells/ml 的HEK-293细胞或6×10⁶ cells/ml 的CHO-S细胞为例，步骤如下：



后续实验

- (1) 若转染荧光质粒DNA，转染后24-48小时即可采用流式细胞仪或荧光显微镜检测荧光。
- (2) 对于悬浮细胞，若瞬时转染过表达质粒DNA，转染后24小时左右可添加适量的补料培养基增强蛋白表达水平。
- (3) 若转染稳定表达质粒DNA，转染后24-48小时可添加适量的药物进行药物筛选。

转染后细胞状态差或转染效率偏低的原因排查

- (1) 转染当天细胞状态是否良好（转染前3代倍增时间稳定；若为悬浮培养细胞则需形态规则且结团率低，细胞活率大于98%，细胞密度达到2-3×10⁶ cells/ml（HEK-293细胞）或5-6×10⁶ cells/ml（CHO-S细胞）；若为贴壁细胞则需形态正常，汇合度约70%-80%左右进行转染）。
- (2) 悬浮细胞细胞密度计数是否准确，贴壁细胞汇合度判断是否合适。



- (3) 转染用质粒DNA是否合格（浓度大于200 $\mu\text{g/ml}$ ，A260/280在1.8-2.0之间，内毒素小于1 EU/ μg ）。
- (4) 转染各组分添加量是否计算准确且正确添加。
- (5) 若上述事项均确认无误，悬浮细胞转染可以考虑优化转染时质粒DNA添加量、PEI与质粒DNA的比例、转染前细胞密度。建议优化范围：质粒DNA添加量0.3-0.8 $\mu\text{g}/10^6$ cells；PEI与DNA比例2:1-5:1；转染细胞密度 $2-8 \times 10^6$ cells/ml。
- 贴壁细胞转染可以考虑降低质粒DNA和相应PEI用量，或降低PEI和质粒DNA比例（建议优化比例范围为2:1-5:1）。

注意事项

- PEI转染试剂是透明的溶液，使用前若有晶体析出，请于60-80°C水浴加热溶解后使用。
- 用于转染的质粒DNA浓度应大于200 $\mu\text{g/ml}$ ，A260/A280在1.8-2.0之间，内毒素小于1 EU/ μg 。
- PEI-DNA转染复合物形成后，请勿吹打或剧烈摇晃。
- PEI-DNA转染复合物要缓慢加入细胞中，边加边轻轻摇晃。

不同细胞培养板转染贴壁细胞时培养基、质粒DNA和PEI用量（仅供参考）

细胞培养板	单孔面积 (cm^2)	铺板培养基用量 (ml)	DNA用量 (μg)	PEI用量 (μl)	PEI Buffer用量 (μl)
96-well	0.3	0.1	0.2	0.3-0.8	5
48-well	1	0.25	0.4	0.6-1.6	13
24-well	2	0.5	0.8	1.2-3.2	25
12-well	4	1.0	1.6	2.4-6.4	50
6-well	10	2.0	4.0	6-16	100
35 mm	10	2.0	4.0	6-16	100
60 mm	20	5.0	8.0	12-32	250
10 cm	60	10	24	24-72	500
T 25	25	6.0	10	10-30	300
T 75	75	20	30	30-90	1000

悬浮细胞不同转染体积质粒DNA和PEI用量（仅供参考）

细胞类型	转染体积 (ml)	细胞密度 (10^6 cells/ml)	DNA用量 (μg)	PEI用量 (μl)	PEI Buffer用量 (ml)
HEK-293/ HEK-293F	30	3	40.5	81-162	1.5
HEK-293/ HEK-293F	100	3	135	270-540	5.0
HEK-293/ HEK-293F	400	3	540	1080-2160	20
CHO-S/ CHO-K1	30	6	72	144-360	1.5
CHO-S/ CHO-K1	100	6	240	480-1200	5.0
CHO-S/ CHO-K1	400	6	960	1920-4800	20

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.1-202501

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

