

LTXFECT线性PEI 40000 转染试剂说明书

名称	LTXFECT线性PEI40000转染试剂
英文	LTXFECT Linear PEI40000 Trans
货号	CSP217
外观	粉末
规格	1g
保存	室温密封保存，有效期2年。储存液在4℃保存，有效期3个月。
运输	常温
用途	仅供科研使用

【产品描述】

PEI 40000是一种分子量为40000的高电荷阳离子聚合物，容易结合带负电荷的核酸分子，形成复合物，并使该复合物进入细胞中。PEI 40000是一种瞬时转染试剂，细胞毒性低，转染效率高，在HEK293和CHO等细胞中基因表达效率较高。目前已经验证线性PEI转染试剂广泛适用于多种细胞系包括HEK-293、HEK293T、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3、Sf9、HepG2和Hela细胞等，转染效率高达80%~90%。

本产品为速溶型，溶解迅速，配制方便。

【产品特点】

1. 优越的转染效率
2. 重组蛋白的高表达水平
3. 与含血清的培养基相兼容
4. 低细胞毒性，易于操作

【操作步骤】

试剂准备：

1g粉剂定容在1L纯水中，需用NaOH/HCL调节PH到6.90-7.10，一次性无菌滤器过滤，4℃备用。

瞬时转染方法：

一、接种细胞，转染前一天，用胶原酶消化细胞并计数（不建议用胰酶）。调整细胞浓度，将细胞铺入细胞培养的器皿，每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到70~80%。

二. 准备DNA-PEI复合物, DNA、PEI试剂和稀释剂在进行以下步骤前需先使其升至室温。用中乔新舟转染专用减血清培养基 (货号: ZQ-300-ST) 稀释适量DNA。用同样的培养基稀释PEI试剂。每1 μ g DNA 需用2-5 μ L线性PEI转染试剂。一边轻轻涡旋装有DNA溶液的试管, 一边将稀释的线性PEI转染试剂滴加至试管中 (注意: 请勿颠倒添加顺序)。充分混匀后, 室温静置10~25 min以形成DNA-PEI复合物。

三. 转染细胞, 直接向每个孔中加入DNA-PEI复合物并轻轻涡旋培养板/培养皿。在无血清条件下转染时, 去除生长培养基, 替换成无血清培养基, 然后滴DNA-PEI复合物。转染3 h后, 添加1/2体积的包含30%血清的生长培养基。

四. 孵育细胞和分析结果, 在CO₂培养箱中37°C下孵育细胞至可以分析检测。转染后最快7 h即可检测到转入基因的表达。请自行确定最适合检测时间。

稳定转染方法:

一. 接种细胞, 转染前一天, 用胰酶消化细胞并计数。调整细胞浓度, 将细胞铺入细胞培养的器皿, 每个孔置入的细胞量应能使转染时细胞汇合度达到70~80%。

二. 准备DNA-PEI复合物: DNA、PEI试剂和稀释剂在进行以下步骤前需先使其升至室温。用中乔新舟转染专用减血清培养基 (货号: ZQ-300-ST) 稀释适量DNA。用同样的培养基稀释PEI试剂。每1 μ g DNA 需用2-5 μ L线性PEI转染试剂。一边轻轻涡旋装有DNA溶液的试管, 一边将稀释的线性PEI转染试剂滴加至试管中 (注意: 请勿颠倒添加顺序)。充分混匀后, 室温静置10~25 min以形成DNA-PEI复合物。

三. 转染细胞, 直接向每个孔中加入DNA-PEI复合物并轻轻涡旋培养板/培养皿。在无血清条件下转染时, 去除生长培养基, 替换成无血清培养基, 然后滴DNA-PEI复合物。转染3 h后, 添加1/2体积的包含30%血清的生长培养基。

四. 孵育细胞和分析结果: 在CO₂培养箱中37°C下孵育细胞至可以分析检测。转染后最快7h即可检测到转入基因的表达。

五. 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), 在CO₂培养箱中37°C孵育过夜。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。

【特别提醒】

一. 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汇合度仍为 70~80%。

二. 对于接触抑制敏感的细胞, 可适当降低铺板密度。

三. 即使在有蛋白 (如 10%的血清) 存在的条件下, DNA-PEI复合物仍能转染细胞, 但是DNA-PEI复合物必须在无蛋白存在的条件下形成。我们推荐使用中乔新舟转染专用减血清培养基 (货号: ZQ-300-ST) 以达到最佳转染效率。其他的无蛋白培养基则需测试与线性PEI转染试剂的兼容性。

四. 对大多数细胞而言, 每1ug使用3.0ul转染试剂都能获得较高转染效率。使用者也可尝试每1ugDNA 使用1~4 ul 体积线性PEI转染试剂进行优化。

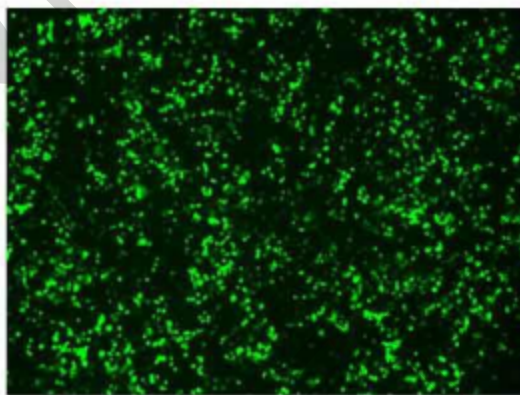
五. 参考用量

细胞培养容器	表面积	稀释液体积	DNA的量	PEI溶液的 量	培养基总量
96-well	0.3cm ²	10ul	0.1ug	0.1ul	100ul
48-well	0.7cm ²	20ul	0.2ug	0.3ul	200ul
24-well	1.9cm ²	50ul	0.5ug	1ul	500ul
12-well	3.8cm ²	50ul	1ug	2ul	1ml
6-well/35mm dish	10cm ²	100ul	2ug	4ul	2ml
60mm dish/T25 flask	21cm ²	200ul	4ug	8ul	4ml
100mm dish/T75 flask	58cm ²	500ul	10ug	20ul	10ml

转染前的293T



293T转染后48h (GFP)



【注意事项】

1. 质粒质量, 请务必使用高质量转染级无内毒素质粒。通过 260 nm 光吸收测定 DNA 浓度, 260 nm / 280 nm 比值确定 DNA 纯度 (比值应该在 1.8~2.0 的范围之内)。如有可能, 请通过琼脂糖凝胶电泳检测质粒的完整性。
2. 细胞条件, 使用适当保存和经常传代的健康细胞。确保培养基没有被细菌、真菌或支原体污染。如果细胞是近期复苏的液氮冻存细胞, 请在转染前至少传代两次。建议使用中乔新舟血清培养细胞。
3. 为了您的健康和安全, 实验操作时请穿实验服并戴一次性手套、口罩。