

线性化聚乙烯亚胺转染试剂(分子量25000,1mg/ml)

产品货号: T22518

产品规格: 1ml

产品简介:

线性化聚乙烯亚胺PEI25,000, 一种高电荷阳离子聚合物, 非常容易结合于高电荷阴离子基质。工业应用上, 线性化PEI可改善负电荷染料的物理外观, 以调整染料的化学特性和增强染料与固相基质的黏附能力, 常用作黏附增强剂, 作用同多聚赖氨酸(poly-lysine); 科研应用上, 线性化PEI能与DNA或其他负电荷生物大分子简单结合, 正是这一特性, 使得成为一种非常行之有效的载体运输介质 (Vector carrier), 即转染试剂。

线性化聚Z烯亚胺PEI25000(Polyethylenimine Linear, MW 25000)是一款优秀、低成本、值得信赖的瞬时性转染试剂。在HEK293和CHO表达系统中, PEI在宽广的生产规模内(从96孔板到100L生物反应器)能提供连续性的高基因表达。

本品是PEI25K的无菌溶液, 浓度为1mg/ml, 直接使用即可。按照DNA:PEI25K=1: 3的比例来操作, 1ml本品足以用来转染330μgDNA, 或者, 6孔板内约做80-160次转染。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
线性化聚乙烯亚胺转染试剂 (分子量25000,1mg/ml)	1ml	-20°C

操作方法 (贴壁细胞):

1. 铺板

- 1) 转染前 18-24h 进行铺板, 调整合适的细胞密度, 使其在转染时细胞密度达 60-80%。

[注意]: 高血清水平会抑制转染效率, 大多数情况, 低血清水平(≤5%)能产生最高的转染效率。

2. 转染步骤(以6孔板的单孔为例)

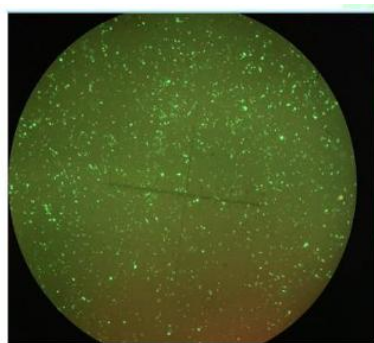
- 1) 转染前1-2h, 每孔替换为3ml含2%血清的新鲜生长培养基。
- 2) 制备PEI25K-DNA转染复合物(严格按照以下步骤进行): ①往300μl无血清培养基(比如: Opti-MEM)加入2μg质粒DNA, 低速混合/涡旋均匀; ②往混合物内加入6μl PEI25K(1mg/ml) (DNA/PEI25K=1:3), 低速涡旋5s; ③无菌环境, 室温静置30min以形成PEI25K-DNA转染复合物。④用移液枪上下吹打3次, 轻轻混匀。
- 3) 将PEI25K-DNA转染复合物转到孔内。轻轻晃动培养皿或轻微涡旋, 使得复合物分散均匀。

[注意]: 以上步骤可通过调整PEI25K-DNA复合物在无血清培养基内的体积(为培养总体积的10%)来进行放大或缩小。

3. 孵育

- 1) 37°C, 5%CO₂培养箱内培养细胞, 转染后12-18h, 去除含PEI25K-DNA复合物的培养液, 更换新鲜的生长培养基。
- 2) 通常, 转染后36-48h能检测到重组蛋白表达。一般在转染后72-96h能观察到最大水平的表达。

PEI25K客户使用案例(逐步增加中)



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

图片描述: 以结肠癌细胞(HCT116)为对象, 按照质粒DNA:PEI2,5000 =1:4的比例制备转染混合物并转染进入HCT116细胞, 36h后于荧光显微镜下观察转染效率 (GFP, 绿色荧光蛋白)。

注意事项:

1. 收到本品或第一次使用, 请根据单次用分装后置于-20°C冻存, 尽量降低反复冻融次数。
2. 本品为无菌溶液, 请操作过程中执行无菌操作。
3. 请务必使用高质量的无内毒素质粒。通过260nm光吸收测定DNA浓度, 260nm/280nm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。
4. 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。
5. 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重组蛋白的表达水平。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60-80%。
6. 对于接触抑制敏感的细胞, 可适当降低铺板密度。
7. 推荐用商业化的无血清培养基比如Opti-MEM来稀释DNA和PEI25K, 制备转染复合物。
8. 转染过程请不要使用抗生素。
9. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件:

-20°C保存, 1年有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>