

# MetaCell® PEI 40K

## 线性化聚乙烯亚胺转染试剂

### 产品简介

MetaCell® PEI 40K (浓度为1mg/mL) 是一种以线性化聚乙烯亚胺为主体、分子量为40000的高电荷阳离子聚合物, 其本身带正电, 可以有效结合带负电的核酸, 与之形成复合物, 并导入到细胞中, 适用于细胞的质粒DNA转染。目前已经验证该转染试剂广泛适用于多种细胞系包括HEK293、HEK293T、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3、Sf9、HepG2和Hela细胞等。

产品名称	产品编码	包装规格	储存条件	有效期	推荐使用范围
MetaCell® PEI 40K	L5001-0010	10mL	2-8°C, 密闭、避光 不可反复冻融	18个月	HEK293、CHO细胞 瞬时转染
	L5001-0100	100mL			

MetaCell® PEI 40K适用于科研和基于细胞培养的大规模生物制品的生产, 但不可直接用于人体或作为药物用。

### 试剂准备

稀释液准备: 用细胞培养级水来制备150mM NaCl (比如: 称取876.6mg高纯NaCl加入80ml细胞培养级水, 充分溶解后, 定容到100mL, 经0.1或0.2µm滤膜过滤除菌。)

### 注意事项

- 请务必使用高质量的无内毒素质粒。通过260 nm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。
- 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。
- 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%。
- 对于接触抑制敏感的细胞, 可适当降低铺板密度。
- 为了安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 操作说明 — 贴壁细胞

#### • 铺板

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

注: 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。

#### • 转染步骤 (以6孔板的单孔为例)

- 转染前1-2h, 每孔替换为3mL含2%血清的新鲜生长培养基。
- 制备PEI 40K-DNA转染复合物 (严格按照顺序进行):

- (1) 往300 $\mu$ L稀释液内加入2 $\mu$ g质粒DNA,低速混合/涡旋均匀;
- (2) 往混合物内加入8 $\mu$ L的 MetaCell<sup>®</sup> PEI 40K (1mg/mL) (DNA / PEI 40K=1 : 4) , 低速涡旋5s;
- (3) 无菌环境, 室温静置20min以形成PEI 40K-DNA转染复合物;
- (4) 用移液枪上下吹打3次, 轻轻混匀。

3. 将PEI 40K-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: 以上步骤可通过调整PEI 40K-DNA复合物在稀释液内的体积(稀释液为培养总体积的10%)来进行放大或缩小(参考表2), 确保DNA/PEI 40K=1:4。

#### • 孵育

1. 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>培养箱内培养细胞, 转染后12-18h, 去除含PEI 40K-DNA复合物的培养液, 更换新鲜的生长培养基。

表1. 不同培养器皿的建议接种密度

培养器皿	培养表面积cm <sup>2</sup>	接种细胞数	培养器皿	培养表面积cm <sup>2</sup>	接种细胞数
96孔板	0.3	1.2-2.4 $\times 10^4$	35mm培养皿	9.6	3.5-7.0 $\times 10^5$
48孔板	1.0	4.0-8.0 $\times 10^4$	60mm培养皿	21	0.9-1.8 $\times 10^6$
24孔板	1.9	0.8-1.6 $\times 10^4$	100mm培养皿	58	2.2-4.4 $\times 10^6$
12孔板	3.5	1.5-3.0 $\times 10^4$	T75培养瓶	75	3.0-6.0 $\times 10^6$
6孔板	9.6	4.0-8.0 $\times 10^4$	T175培养瓶	175	0.7-1.4 $\times 10^7$

表2. 各种培养体系内转染用各组分建议用量

培养器皿	培养体积 (mL)	质粒DNA ( $\mu$ g)	稀释液 (mL)	PEI 40K ( $\mu$ L)
6孔板, 单板	3	2-4	0.3	8-16
35mm培养皿	3	2-4	0.3	8-16
60mm培养皿	5	6-12	0.5	24-48
100mm培养皿	10	12-24	1.0	48-96
T75培养瓶	15	18-36	1.5	72-144
250mL摇瓶	50	50-100	2.5	200-400

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。

### 操作说明 — 悬浮细胞 (以CHO为例)

Recommendation	Amount of DNA	Volume of PEI	Volume of MetaCell® Media for complexes preparation
Range	0.8-1.5 µg	7-12 µL	0.08 mL
Scenario 1	1.5 µg	10 µL	0.08 mL
Scenario 2	2.0 µg	12 µL	
Scenario 3	0.8 µg	7 µL	0.08 mL
Scenario 4	1.5 µg	10 µL	

实际用量依据细胞系和培养基等不同进行工艺优化。

-----最初编制日期: 2024.01-----

-----最新修订日期: 2024.08-----



[www.cellplusbio.com](http://www.cellplusbio.com)

地址: 江苏省苏州市高新区大同路20号A3幢

电话: 0512-67332699

邮箱: [Service@cellplusbio.com](mailto:Service@cellplusbio.com)