

Make a leap-forward in Biosciences

PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent

**DNA transfection reagent for large scale recombinant
protein expression and virus production**

Catalog Number: P09310

LeapWalTM 立谱沃生物
BIOTECH



Hunan LeapWal Biotech Co., Ltd.

Product Manual

Version 2.0

LeapWalTM Biotech 保留此产品技术文件的所有权利。未经 LeapWalTM Biotech 的书面许可，本文件的任何部分，不得改编或转载用作其他商业用途。

FOR RESEARCH USE ONLY
Not for use in diagnostic procedures

目录 Contents



01/产品概述	02
02/产品组分	03
03/保存条件	03
04/产品特点	03
05/适用范围	04
06/实验流程概要	04
07/实验步骤	04
08/注意事项	06
09/实验案例分析	07
10/其他相关产品	08

01/产品概述

PEI 是基因转染中常用的高分子载体，同时也是基因转染的“金标准”。PEI 转染的原理是带正电的阳离子聚合物与核酸中带负电的磷酸基团形成带正电的复合物后，再与细胞表面带负电的蛋白多糖相互作用，通过细胞胞吞进入细胞。PEI 主链上每三个原子就含有一个氮原子，因此具有较高的阳离子密度，这对于结合带负电荷的核酸分子是非常有利的。在生理 pH 条件下，PEI 部分胺基被质子化，随着体系 pH 值的降低，PEI 剩余的胺基被质子化，从而赋予了其出色的核酸结合能力和质子缓冲能力，有利于通过质子海绵效应从内涵体逃逸。但是，PEI 高的阳离子电荷密度，导致其严重的细胞毒性。同时，PEI 25K 含有 4%-11% 的残留丙酰基，这可能阻碍聚合物主链与 DNA 的有效结合，影响基因转染效率。因此，针对 PEI 的研究工作主要聚焦在通过功能化修饰以及脱丙酰基，来提高转染效率、降低细胞毒性。

PolyShooterTM NEO-PEI 是一种基于分子量 25 kDa PEI 的 DNA 转染试剂。通过对 PEI 进行功能改性，NEO-PEI 丙酰基完全脱落，显著改善了 PEI 的基因递送性能，表现出较好的稳定性和较低的细胞毒性。PolyShooterTM NEO-PEI 与 PEI 25000 转染试剂相比，具有很多优点。包括：

1. PolyShooterTM NEO-PEI 为即用型转染试剂，无需配置，可直接用于细胞转染实验，而 PEI 25000 需要先把水调成弱酸性助其溶解，溶解后再用 NaOH 把 pH 调至中性，配置过程繁琐复杂，容易引入误差导致转染效果不稳定。PEI 40000 虽然较 PEI 25000 更易溶解，但也同样存在配置繁琐，配置过程中容易引入误差的风险。
2. PEI 25000 含有 4%-11% 的丙酰基残留，丙酰基会阻止聚合物主链与 DNA 结合，影响转染效果。相较于 PEI 25000，PolyShooterTM NEO-PEI 丙酰基完全脱落，因此其性能始终高效如一。

PolyShooterTM NEO-PEI 是一种功能强大、值得信赖且经济实惠的瞬时转染试剂，广泛适用于多种细胞系，包括 HEK-293、HEK-293T、CHO-K1、COS-1、COS-7、NIH/3T3、Sf9、HepG2 和 HeLa 细胞等。同时，PolyShooterTM NEO-PEI 转染试剂在大规模重组

蛋白表达和病毒生产等领域有着高效、低毒、稳定、可靠等显著优势。PolyShooterTM NEO-PEI 提供从 96 孔板到 200L 生物反应器持续的高表达转染体系，实现从新药研发到工业化生产的轻松过度。与大多数细胞转染方案相比，使用 PolyShooterTM NEO-PEI 既能得到稳定的基因表达效率，又可显著降低转染成本。

02/产品组分

组分	P09310-01	P09310-100	P09310-500
PolyShooter TM NEO-PEI Transfection Reagent	1mL/支	100mL	500mL

03/保存条件

冰袋 (wet ice) 运输。4℃ 保存，有效期 6 个月。-30℃ 至 -10℃ 保存，有效期 12 个月，避免反复冻融。

04/产品特点

- ◇ 易于使用——即用型转染试剂，无需配置，可直接用于细胞转染实验
- ◇ 转染效率高——针对多种类型细胞，均表现出优秀的转染效率和高重组蛋白表达
- ◇ 细胞毒性低——作用温和，能更好地实现高转染效率与低细胞毒性之间的平衡
- ◇ 性能更稳定——丙酰基完全脱落，性能始终高效如一
- ◇ 高性价比——既能得到稳定的基因表达效率，又可显著降低转染成本
- ◇ 化学成分明确，不含动物来源成分

05/适用范围

PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent 广泛适用于多种细胞系的 DNA 转染，可应用于大规模重组蛋白表达和病毒生产等领域。本试剂提供从 96 孔板到 200L 生物反应器持续的高表达转染体系，实现从新药研发到工业化生产的轻松过度。

06/实验流程概要

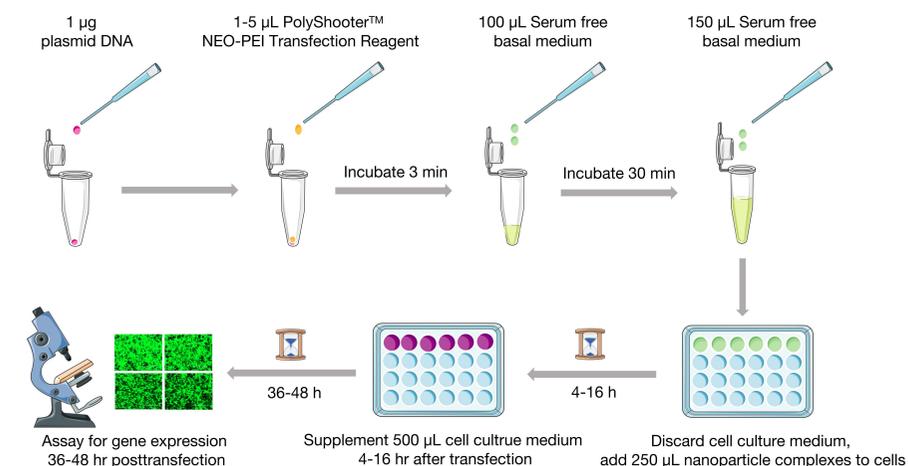


图 1: PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent 转染实验流程图

07/实验步骤 (以 24 孔板为例，其他培养板加样体积参考表一：转染量度标准)

1: 准备待转染细胞

贴壁细胞: 转染前一天，将胰酶消化后的细胞按照每孔 $0.3-2 \times 10^5$ 个细胞的量进行铺板，

使其在转染时密度为 60%-70%。

悬浮细胞：转染当天，配制转染试剂-核酸复合物之前，在 24 孔板中进行细胞铺板，每 500 μL 生长培养基中加入 $2-5 \times 10^5$ 个细胞。

- 细胞状态会极大影响转染效率，待转染细胞应处于良好生长状态，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染。

2: 准备 PolyShooterTM NEO-PEI 转染试剂-核酸复合物

(1) 取 1 μg 质粒加入到 1.5 mL 离心管中，加入 2.5 μL * PolyShooterTM NEO-PEI 转染试剂与质粒混合，室温孵育 3 分钟。

- * PolyShooterTM NEO-PEI 转染试剂用量受细胞类型及其他实验条件影响，通常情况下，DNA (μg) 和 PolyShooterTM NEO-PEI 转染试剂 (μL) 的推荐使用比例为 1: 2.5。建议初次使用时，可在 1: 1-1: 5 的范围内调整以优化转染效果。

(2) 往上述混合物中加入 100 μL 无血清基础培养基¹ (与培养体系一致，且无血清无双抗)，轻轻混匀，在室温下静置 30 分钟，形成转染试剂-核酸复合物。

- PolyShooterTM NEO-PEI 转染试剂-核酸复合物在室温下 4 个小时内保持稳定。

(3) 30 分钟后，往转染试剂-核酸复合物中加入 150 μL 无血清基础培养基² (与培养体系一致，且无血清无双抗) 稀释复合物。

3: 细胞转染

弃去细胞培养基，将上述 250 μL 转染试剂-核酸复合物加入每孔细胞，转染 4-16 小时后，给细胞补充新鲜生长培养基 500 μL /孔。

4: 分析转染细胞

转染细胞培养 36-48 小时后，可根据实际情况用荧光检测法、Western Blot、RT-PCR、ELISA、流式细胞术、报告基因等检测转染效果，或加入筛选药物进行稳定细胞株的筛选。

表一：转染量度标准

细胞培养装置	生长培养基体积 (mL)	质粒 (μg)	NEO-PEI 转染试剂 (μL)	无血清基础培养基体积 ¹ (μL)	无血清基础培养基体积 ² (μL)
96 孔板	0.1	0.2	0.5	20	30
24 孔板	0.5	1	2.5	100	150
12 孔板	1	2	5	200	300
6 孔板	2	2-4	5-10	400	600
60mm 培养皿	4	3-5	7.5-12.5	800	1200
100mm 培养皿	10	5-10	12.5-25	2000	3000
125mL 摇瓶	30-35	30-35	75-87.5	6000	9000
500mL 摇瓶	120-140	120-140	300-350	24000	36000
1000mL 摇瓶	240-280	240-280	600-700	48000	72000

若使用更大体积的生物反应器进行细胞转染，请参考上表进行倍数放大。

08/注意事项

- 1: 核酸质量：想要获得最高的转染效率和最低的细胞毒性，应选用高纯度、无菌、无污染、无内毒素的优质核酸。质粒中的内毒素是转染的大敌，内毒素会导致转染效率显著下降。推荐使用无内毒素质粒抽提试剂盒进行质粒提取，保证质粒 A_{260}/A_{280} 比值为 1.8-2.0。同时，需合理计算质粒用量，转染过量的质粒可能会导致细胞毒性甚至死亡；
- 2: 细胞质量：细胞状态会极大影响转染效率，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行转染；

- 3: 细胞密度: 建议细胞传代后 12-24 h 内、细胞密度为 60%-70% 时进行转染。不同的细胞转染实验, 对细胞密度的要求不尽相同。在进行不同核酸或不同细胞系的转染时, 需要根据说明书再次优化实验条件。此外, 在实验过程中保证相同的接种条件, 确保实验数据的可重复性;
- 4: 质粒与转染试剂使用比例: 对于大多数细胞系, 转染复合物中 DNA (μg) 与 PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent (μL) 的比例在 1: 1 至 1: 5 之间, 推荐比例为 1:2.5。想要获得最优的转染结果, 需要对这一比例进行优化, 根据所转染细胞及质粒选择适合的转染比例;
- 5: PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent 也可用于有血清培养基的转染, 但通过我们实验室的测试, 我们认为体系中血清的存在会对转染效果有一定程度的干扰, 所以, 为了追求更高效的转染效率, 我们更推荐使用无血清转染法(即“07/实验步骤”中叙述的转染方法);
- 6: 由于一些特殊培养基中的某些成分可能会抑制阳离子聚合物介导的转染, 因此有必要检测特殊培养基与 PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent 的相容性;
- 7: 为了您的健康安全, 请规范操作, 穿戴实验服与手套开展实验;
- 8: 本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及治疗。

09/实验案例分析

- 1: 转染前一天, 将图 2 所示 3 种状态良好的细胞接种于 24 孔板, 使其在转染时密度为 60%-70%。
- 2: 按照每孔计量, 取 1 μg GFP 质粒加入到 1.5 mL 离心管中, PolyShooterTM NEO-PEI 组(图 2 上)加入 2.5 μL PolyShooterTM NEO-PEI Transfection Reagent 与质粒混合, PEI 组(图 2 下)加入 2.5 μL PEI 25k 与质粒混合。室温孵育 3 分钟后, 往混合物中加入 100 μL 无血清基础 DMEM 培养基, 轻轻混匀, 在室温下静置 30 分钟, 形成转染试剂-核酸复合物。

- 3: 孵育 30 分钟后, 往转染试剂-核酸复合物中加入 150 μL 无血清基础 DMEM 培养基稀释复合物。
- 4: 将细胞培养基弃去, 加入上述 250 μL 转染试剂-核酸复合物。
- 5: 转染 12 小时后, 给细胞补充新鲜生长培养基 500 μL /孔。
- 6: 转染细胞培养 48 小时后, 用荧光显微镜检测 GFP 绿色荧光蛋白表达情况, 并拍照记录, 实验结果如图 2 所示。

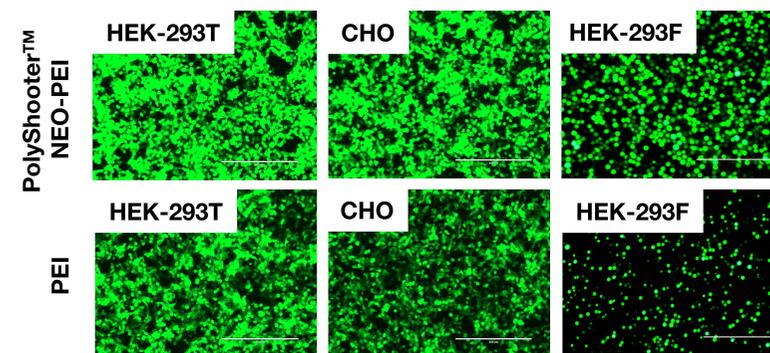


图 2: 转染细胞 48 小时后, 用荧光显微镜检测 GFP 绿色荧光蛋白表达情况

10/其他相关产品

产品名称	货号	规格
PolyShooter TM Transfection Reagent	P09110-01	1 mL
	P09110-05	1 mL x 5 支