

Hieff Trans[®] PEI AAV Transfection Reagent-GMP

产品简介

本产品是一种专为悬浮体系规模化生产 AAV 而开发,产品是经过优化改造后的线性化聚乙烯亚胺 (PolyethylenimineLinear,PEI)。本产品纯化学合成,不含动物源成分,细胞毒性低,具备广泛的 AAV 血清型适用性。本产品 DNA 荷载能力强、转染复合物比例低和复合物稳定性高,为大规模 AAV 生产提供便利。

本产品是按照 GMP 工艺要求生产,产品以无菌液体形式提供。

产品信息

| | |
|----|--------------------------------|
| 货号 | 40824ES10/ 40824ES60/40824ES80 |
| 规格 | 10 mL /100 mL /1 L |

组分信息

| 组分名称 | 40824ES10 | 40824ES60 | 40824ES80 |
|---|-----------|-----------|-----------|
| Hieff Trans [®] PEI AAV Transfection Reagent-GMP | 10 mL | 100 mL | 1 L |

储存条件

2-8°C 保存,有效期 2 年。

转染操作流程

1. 接种细胞

根据细胞状态,选择合适的接种密度,建议细胞接种密度为 1-1.5E6 cells/mL,使第二天转染时细胞密度为 2-3E6 cells/mL 为宜。

2. 转染复合物配置(以 1 L 体系为例)

- 1) 质粒与试剂比例:质粒 (μg) 与转染试剂 (μL) 为 1:0.5-1:1。
- 2) 质粒稀释:使用 25 mL 无血清培养基稀释 2 mg 质粒,并轻轻混匀。
- 3) 试剂稀释:使用 25 mL 无血清培养基稀释 1 mL Hieff Trans[®] PEI AAV Transfection Reagent-GMP 转染试剂,并轻轻混匀。
- 4) 配置复合物:将配置好的 25 mL 质粒稀释液加入到 25 mL 转染试剂稀释液中,轻轻涡旋混匀后,室温静置 20 mins,形成质粒-PEI 复合物,备用。

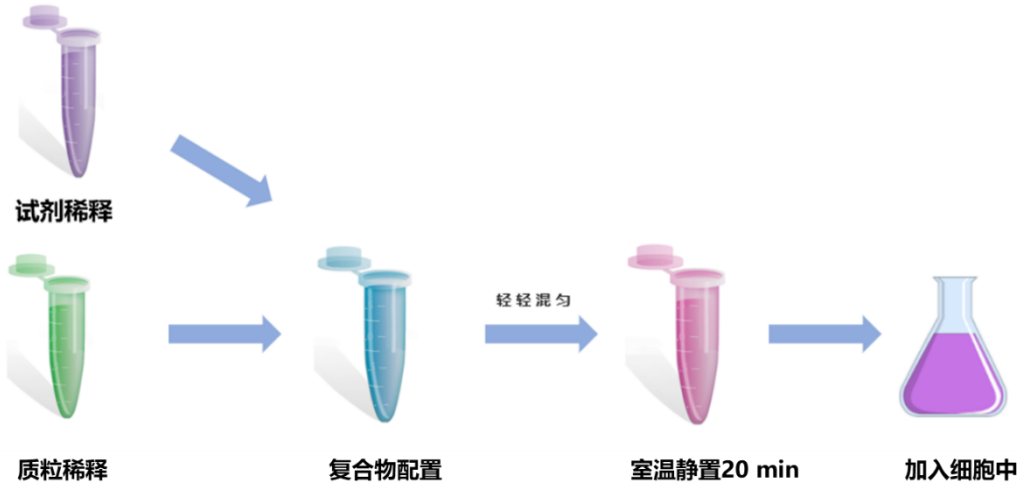
表 1 转染复合物参数 (仅供参考)

| 参数类型 | 推荐条件 | 条件范围 |
|-------------------|-------|-------------|
| 核酸用量 (每百万细胞) | 1 μg | 0.5 μg-2 μg |
| 核酸与转染试剂比例 (μg:μL) | 1:0.5 | 1:0.5-1:1 |

| | | |
|-----------------|---------|-----------------|
| 转染复合物体积 (%培养体积) | 5% | 1%-10% |
| 复合物孵育时间 | 20 mins | 15 mins-60 mins |
| 复合物介质 (无血清等添加物) | 无血清培养基 | 无血清培养基, PBS |

3. 转染细胞

- 1) 直接将 50 mL 的质粒-PEI 复合物均匀加入细胞中。
- 2) 在 37°C 与 5% CO₂ 条件下继续培养细胞，并在培养 72 h 后收获病毒。



图一 Hieff Trans® PEI AAV Transfection Reagent-GMP 转染试剂操作步骤示意图

表 2 不同细胞培养参数转染试剂用量 (仅供参考)

| 细胞培养参数 | | | 转染参数 | | |
|----------------|-------|--------------|--------|--------|--------|
| 细胞密度 | 培养体积 | 总细胞数量 | 复合物体积 | DNA 用量 | 转染试剂体积 |
| 2E6 cells/mL | 30 mL | 6E7 cells | 1.5 mL | 60 µg | 60 µL |
| | 1 L | 2E9 cells | 50 mL | 2 mg | 2 mL |
| | 100 L | 2E11 cells | 5 L | 200 mg | 200 mL |
| 2.5E6 cells/mL | 30 mL | 7.5E7 cells | 1.5 mL | 75 µg | 75 µL |
| | 1 L | 2.5E9 cells | 50 mL | 2.5 mg | 2.5 mL |
| | 100 L | 2.5E11 cells | 5 L | 250 mg | 250 mL |

注意事项

1. 为提高转染效率，建议悬浮细胞在无血清培养体系中驯化几天后进行转染操作。
2. 转染过程中推荐使用高质量的质粒，如无内毒素、无蛋白和 RNA 残留的质粒。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套及通风橱操作。