

Hieff Trans[®] UltraAAV 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 (Polyethylenimine Linear, 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 [®] UltraAAV 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[®] UltraAAV 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。

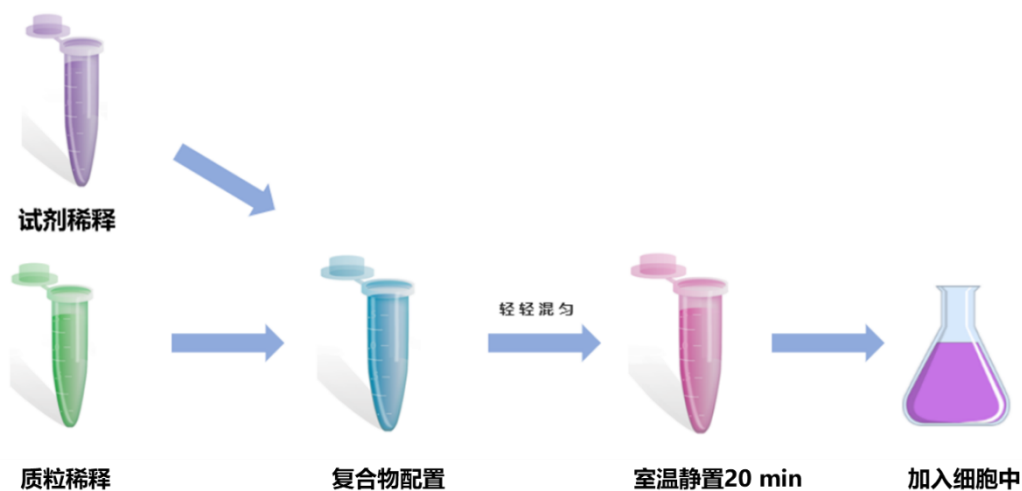


图 1 Hieff Trans® UltraAAV Transfection Reagent-GMP 转染试剂操作步骤示意图

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。