

## 细胞转染方法比较

细胞转染，是指将外源基因导入细胞内的一种技术。根据哺乳动物细胞蛋白表达流程，细胞培养完成后需进行细胞转染，根据不同的实验目的选择不同的转染方法。目前，常用的细胞转染方法主要分为三类途径：物理介导（电穿孔法，基因枪法、显微注射法）、化学介导（脂质体转染法、磷酸钙共沉淀法、阳离子聚合物介导法）、生物介导（病毒介导转染、原生质体转染）

理想细胞转染方法，应该具有转染效率高、细胞毒性小等优点。目前实验室常用的转染方法有脂质体转染，阳离子聚合物转染和病毒转染，不同的转染方法各有利弊，针对细胞的习性和不同的实验目的选择相对合适的转染方法。

下面列举了一些常用转染方法的原理，优缺点和适用性

### 细胞转染方法比较

细胞转染方法	细胞转染原理	主要特点	
阳离子脂质体转染法	带正电荷的脂质体靠静电作用和 DNA 结合形成 DNA-脂质体复合物，然后通过细胞的内吞作用进入细胞	a) 操作简便 b) 适用于各种裸露的 DNA 和 RNA 片段 c) 适合转染各种的细胞 d) 对 DNA 浓度有一定要求 e) 对细胞有一定的毒性	瞬时转染 稳定转染 所有细胞
阳离子聚合物	带正电的阳离子聚合物与核酸的磷酸基团形成带正电的复合物，复合物和带负电的细胞膜接触，并通过磷酸钙能够促进外源 DNA 和细胞的结合，磷酸钙-DNA 复合物能够附着到细胞表面，并通过内吞作用	与脂质体转染法类似，但是具有很低的毒性，操作简单，适用性广，是新一代转染试剂	瞬时转染 稳定转染 所有细胞
磷酸钙法	高脉冲的电压破坏细胞膜，在细胞膜表面形成孔道，DNA 通过孔道进入细胞	a) 操作简单 b) 对 DNA 浓度要求高 c) 适用性有局限（不适用于原代细胞）	瞬时转染 稳定转染
电穿孔法		a) 适用性广，适用于质粒和几十 kb 的基因组片段 b) 针对不同细胞要优化实验条件 c) 细胞致死率较高	瞬时转染 稳定转染 所有细胞

显微注射法	利用显微操作系统和显微注射技术将 DNA 直接注入到细胞中	<p>a) 整合率较高, 适用于工程改造和转基因动物的建立</p> <p>b) 操作复杂, 且需要昂贵精密的设备</p> <p>c) 外源基因的整合位点和拷贝数无法控制, 会导致片段缺失、突变</p>	瞬时转染 稳定转染
逆转录病毒转染	通过病毒的膜蛋白和细胞表面的受体相互作用而进入细胞, 利用宿主细胞酶自行转录复制合成 DNA, 并随机整合到细胞基因组中	<p>a) 转染效率高, 适用于难转染细胞转染</p> <p>b) 利用病毒介导转染, 外源基因整合较稳定</p> <p>c) 逆转录病毒只选择感染分裂细胞</p> <p>d) 容纳外源基因长度 &lt; 8kb</p>	稳定转染 特定细胞 转染

## 脂质体转染步骤

1. 细胞培养: 细胞铺板, 加入一定量的细胞培养液, 37°C 二氧化碳培养箱中培养, 待细胞密度生长至 80-90% 时, 准备转染
2. 在 EP 管中, 加入无血清稀释的转染试剂, 室温放置 5min
3. 在 EP 管中, 加入无血清培养基稀释的 DNA, 室温放置
4. 5min, 并将二三步得到的两物质混合得到 C 液, 轻轻混匀, 室温下放置 15-30min
5. 用无血清培养基将细胞洗涤两次, 在细胞中加入适量的无血清培养基
6. 将混合得到的 C 液缓缓加入到细胞中, 摇匀, 在 37°C 的二氧化碳培养箱中培养 6-24 小时
7. 细胞培养 6-24 小时后, 吸去无血清转染液, 加入正常培养液继续培养

## 注意事项:

1. 转染是不能使用含有血清的培养液, 血清对转染效率影响很大
2. 转染前铺板时用无双抗培养基, 抗性的增加会影响转染效率
3. 铺板 24 小时内进行转染
4. 整个操作过程轻柔, 避免剧烈震荡

