

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
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
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）
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

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	a) 整合率较高, 适用于工程改造和转基因动 物的建立 b) 操作复杂, 且需要昂贵精密的设备 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	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	a) 转染效率高, 适用于难转染细胞转染 b) 利用病毒介导转染, 外源基因整合较稳定 c) 逆转录病毒只选择感染分裂细胞 d) 容纳外源基因长度 < 8kb	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:

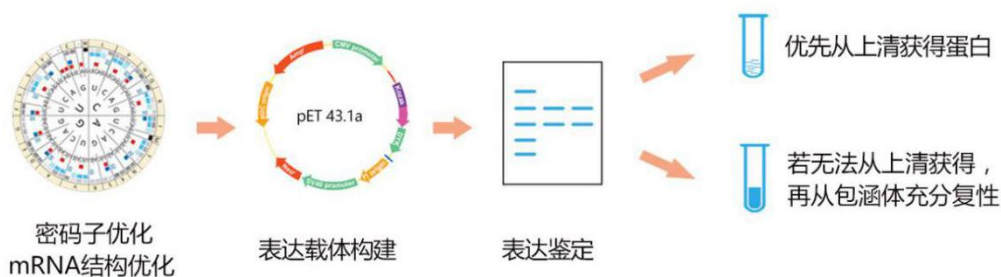
1. 转染是不能使用含有血清的培养液, 血清对转染效率影响很大
2. 转染前铺板时用无双抗培养基, 抗性的增加会影响转染效率
3. 铺板 24 小时内进行转染
4. 整个操作过程轻柔, 避免剧烈震荡

南京德泰生物 -- 专注蛋白与抗体

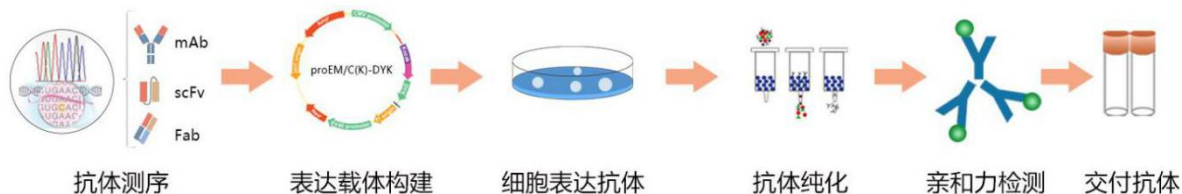
一、蛋白表达（哺乳动物细胞表达）蛋白被细胞充分修饰，活性有保障



二、蛋白表达（大肠杆菌表达）成功率>95%，不成功不收费，成功有保障



三、重组抗体表达 若想改造一个抗体，可以试试重组表达



四、稳定细胞系构建 研究级细胞系构建 & 高表达细胞株开发

