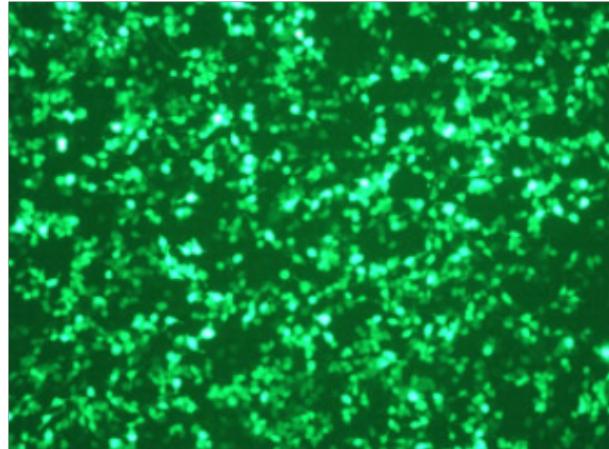


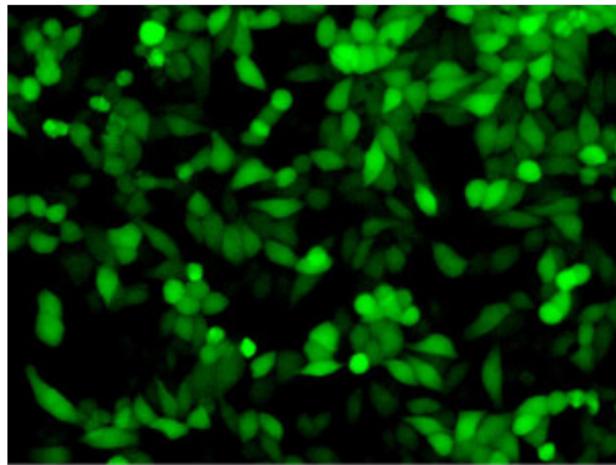
温州细胞高效转染试剂哪家好

发布日期: 2025-09-22

细胞转染操作方法: 转染, 是将外源性基因导入细胞内的一种专门技术。随着基因与蛋白功能研究的深入, 转染目前已成为实验室工作中经常涉及的基本方法。转染大致可分为物理介导、化学介导和生物介导三类途径。电穿孔法、显微注射和基因属于通过物理方法将基因导入细胞的范例; 化学介导方法很多, 如经典的磷酸钙共沉淀法、脂质体转染方法、和多种阳离子物质介导的技术; 生物介导方法, 有较为原始的原生质体转染, 和现在比较多见的各种细菌介导的转染技术。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。细菌介导的转染技术, 是目前转染效率较高的方法, 同时具有细胞毒性很低的优势。但是, 细菌转染方法的准备程序复杂, 常常对细胞类型有很强的选择性, 在一般实验室中很难普及。其可降解性对体内应用也具有重要的意义。温州细胞高效转染试剂哪家好

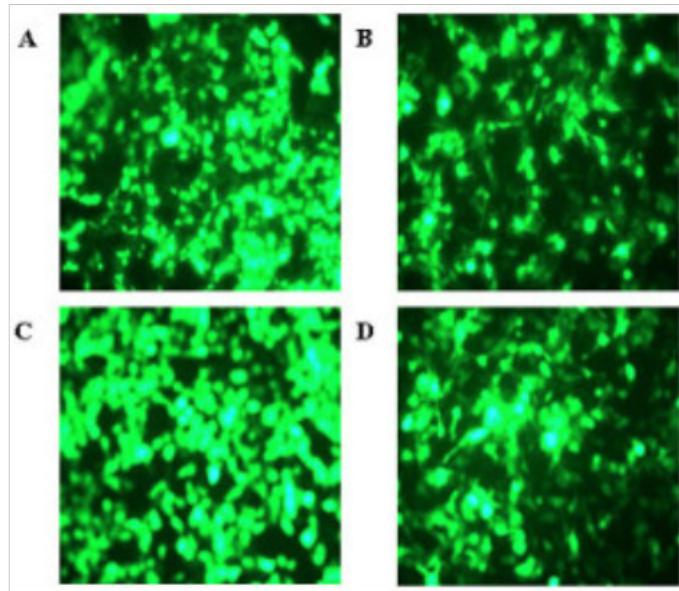


细胞转染实验的方法有哪些: 1. 脂质体法。中性脂质体是利用脂质膜包裹DNA借助脂质膜将DNA导入细胞膜内。带正电的阳离子脂质体则不同DNA并没有预先包埋在脂质体中, 而是带负电的DNA自动结合到带正电的脂质体上, 形成DNA-阳离子脂质体复合物, 从而吸附到带负电的细胞膜表面, 经过内吞被导入细胞。脂质体法始于1987年, 此法的出现使得转染效率、转染的稳定性和可重复性较大提高。阳离子脂质体细胞毒性相对较高, 对不同的细胞可能会干扰细胞的代谢。2. 非脂质体转染。较新的纳米聚合物转染试剂, 如Entranser试剂, 纳米材料, 细胞毒性小, 转染效率高, 渐渐成为各大实验室的选择转染试剂。温州细胞高效转染试剂哪家好表达水平与位点无关, 不会受到周围染色体元件的影响。



DNA细胞转染步骤：1. 提前现在细胞铺板提前现在将细胞种植在24孔板中，以转染时细胞密度在60%左右为宜。2. 转染过程(1)将0.8μg的DNA用25μl无血清稀释液稀释，充分混匀，制成DNA稀释液。注意：无血清稀释液建议采用OPTI-MEM®无血清DMEM或1640。(2)将2μlEntruster™-H4000用25μl无血清稀释液体稀释，充分混匀，制成Entruster™-H4000稀释液。室温静置5分钟。(3)将Entruster™-H4000稀释液分别加入到DNA稀释液中，充分混匀（可用振荡器振荡或用加样器吹吸10次以上），室温静置15分钟。转染复合物制备完成。(4)将转染复合物加入到含细胞和完全培养基的培养容器上，轻柔混匀。注意：①对本试剂，采用含血清的全培养基有助于提升转染效率。

细胞转染，你至少要掌握以下几点：胞转染是指将外源分子如DNA/RNA等导入真核细胞的技术。随着分子生物学和细胞生物学研究的不断发展，转染已经成为研究和控制真核细胞基因功能的常规工具。在研究基因功能、调控基因表达、突变分析和蛋白质生产等生物学试验中，其应用越来越普遍。可分为瞬时转染，稳定转染等。瞬时转染是指外源DNA/RNA不整合到宿主染色体中，因此一个宿主细胞可存在多个拷贝数，产生高水平的表达，但通常只持续几天，多用于启动子和其他调控元件的分析。一般来说，超螺旋质粒DNA转染效率较高，在转染后24-72h内分析结果，常常用到一些报告系统如荧光蛋白，β半乳糖苷酶等来帮助检测。稳定转染是指外源DNA既可以整合到宿主染色体中，也可能作为一种游离体存在。尽管线性DNA比超螺旋DNA转入量低但整合率高。外源DNA整合到染色体中概率很小，通常需要一些选择性标记反复筛选得到稳定转染的同源细胞系。对于贴壁细胞，一般要求在转染前一日，用胰酶处理为单细胞悬液。



影响转染试验的因素：1. 转染试剂跟细胞系不匹配转染试剂跟细胞系也是讲究配合默契的，使用同一种试剂，不同细胞系转染效率通常不同。但细胞系的选择通常是根据实验的需要，因此在转染实验前应根据实验要求和细胞特性选择适合的转染试剂。每种转染试剂都会提供一些已经成功转染的细胞株列表和文献，通过这些资料可选择较适合实验设计的转染试剂。当然，较适合的是高效、低毒、方便、廉价的转染试剂。因为有些细胞系是不稳定的，可能随着培养时间的改变，培养条件的不同，不同的选择压力，可能引起不同的克隆选择。因此就算是同一个细胞系，在不同条件下转染能力的差异可能会很大。必须通过对药物的抗性筛选进行扩增或通过表型变化进行鉴定。温州细胞高效转染试剂哪家好

代细胞和传代次数多的细胞都不是较佳选择。温州细胞高效转染试剂哪家好

细胞转染效率低下的几个大坑：1. 准备不足做脂质体转染的时候，在开展正式实验前要多做预试验，优化转染条件。优化转染条件包括：脂质体的用量、DNA密度、细胞密度、脂质体和DNA混合孵育时间等等。2. 电压过大做电转的时候，如果电压太大，往往会发生细胞大量死亡的情况。不同的细胞，需要的电压是不一样的。这就要求我们多做预实验，多摸索条件。对于大多数细胞来说，其较佳电压位于250-1250v/cm。另外，就是进行转染的细胞应该处于对数生长期。处于对数生长期的细胞的抗损伤能力是较强的。细胞浓度应该处于 5×10^6 到 1×10^7 /mL之间。每次转染的质粒应该控制在4-6 μ g。如果 $> 10\mu\text{g}$ ，转染效率也较大降低。温州细胞高效转染试剂哪家好