

转染实验攻略

转染实验做了又做，效率还是不行，实验被卡，我又双叒叕emo了……

什么是细胞转染？

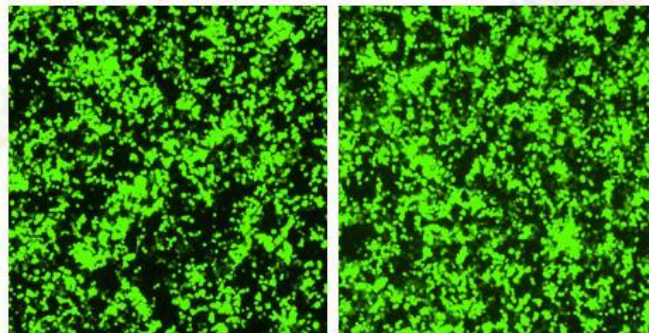
转染实验应该怎么做？

转染效率低下的原因是什么？

大家是否也遇到过类似的问题？不用担心，小傲一一为你解答~

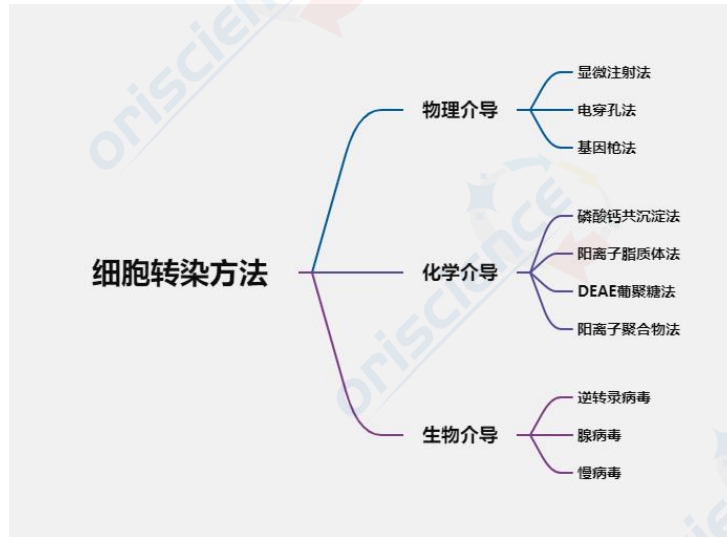
1. 细胞转染

转染(transfection)指真核细胞由于外源遗传物质掺入而获得新的遗传标志的过程。若此 DNA 未与宿主细胞外源遗传物质整合而获表达，称“瞬时转染(transient transfection)”；若与宿主细胞 DNA 整合并随后者的复制而复制称“稳定转染(stable transfection)”。



2. 转染类型

转染大致可分为物理介导、化学介导和生物介导三类途径，详细如下：



3. 阳离子聚合物转染

原理

阳离子聚合物介导的转染主要是聚合物分支中带正电荷的基团可以与带负电荷的核酸相互作用，形成稳定的阳离子聚合物-核酸复合物，与细胞表面结合并通过非特异性内吞作用进入细胞。阳离子聚合物介导的转染与其他同类型转染方法相比适用宿主范围广，操作简便，对细胞毒性小，转染效率高而广受研究者青睐。

具体操作

① 细胞铺板

转染前一天，将细胞铺板，细胞密度控制在培养 16-24 h 后，即转染前细胞汇合度达 60%-80%。

② 细胞转染

吸去培养皿中的培养基，用 PBS 或者无血清培养基清洗一次。更换无血清培养基 (偷偷告诉你，小傲家的转染试剂不仅转染前无需更换培养基，而且转染过程中无需使用 Opti-MEM 等特殊培养基)。

准备转染制备液，用灭菌后的 EP 管制备。以六孔板为例：

在事先备好的 EP 管中加入：

稀释用的无血清培养基 400 μ l；

OriFect enhancer 4 μ l；

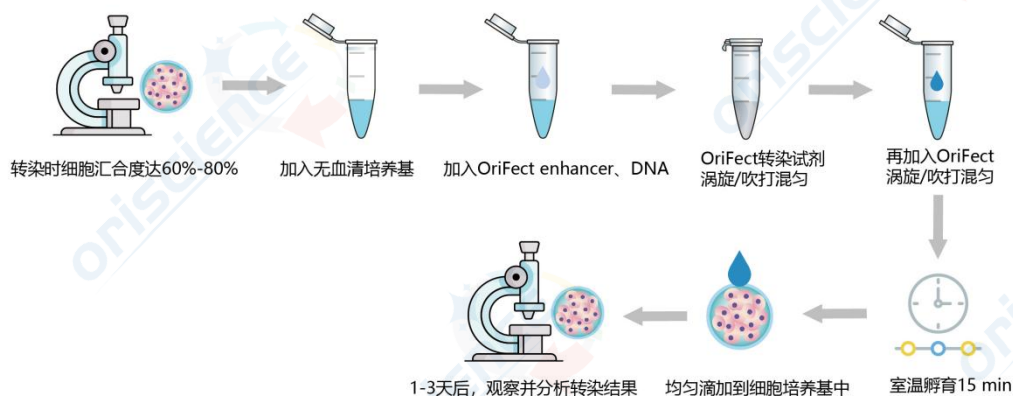
DNA 4 μ g；

及 OriFect 转染试剂 4 μl ，涡旋振荡/吹打，充分混匀，室温孵育 15 min (不同的质粒和聚合物最佳搭配比例不同，转染前，建议做浓度梯度，摸一个最佳配比以便后续得到最佳实验结果)。

孵育完成后，OriFect 聚合物分支中带正电荷的基团可以与带负电荷的核酸相互作用，形成稳定的 OriFect-核酸复合物，直接滴加 OriFect-核酸复合物到前一天接种的细胞中。

③ 观察转染的效果

6-8 h 后观察转染细胞状态以决定是否需要更换培养基以去除转染复合物，转染后 1-3 天，用荧光显微镜观察实验结果并记录荧光蛋白表达情况，分析转染效率。



4、转染常见问题

Q1: 转染效率偏低怎么办呢

A1: 可能原因: 细胞本身状态不佳, OriFect-核酸的胞吞作用降低, 建议尽量选择继代培养及状态良好的细胞;

转染体系不对: 转染试剂用量过低容易造成转染效率低下, 用量过高容易造成细胞毒性, 所以在首次使用转染试剂时, 建议做浓度梯度, 摸索实验体系, 以便得到相对满意的实验结果。

Q2: 转染时的培养基要求, 可否含血清?

A2: 不同的转染试剂要求可能不同, 具体请依照实际说明书。对于部分转染试剂, 在配制混合物时不能含有血清, 但细胞培养基可以含有血清。

Q3: 转染后出现细胞死亡是什么原因? 如何优化转染条件?

A3: 如果是转染试剂对细胞的毒性, 则可以减少转染试剂用量, 或换用其他转染试剂或转染方法; 如果细胞自身状态不好, 则建议重新实验, 必要时重新复苏细胞。

相关产品

货号	产品名称	规格
CC101-0.5ml	OriFect Transfection Reagent（转染试剂）	0.5ml
CC101-1ml	OriFect Transfection Reagent（转染试剂）	1ml
CC101-1.5ml	OriFect Transfection Reagent（转染试剂）	1.5ml