

目前,将外源DNA 导入哺乳动物细胞的方法大致可分为两大类,即生物方法和物理化学方法。生物方法主要以病毒作为载体,通过病毒感染的方式将外源DNA 导入到细胞中,其中以逆转录病毒及腺病毒转染系统最为常用。物理化学方法中常用的有磷酸钙法、脂质体介导的转染、显微注射、电穿孔,以及最近出现的以高分子聚合物为载体的基因传递技术。其中最常用的是化学方法,磷酸钙、阳离子聚合物、脂质体等化学试剂较为常用。

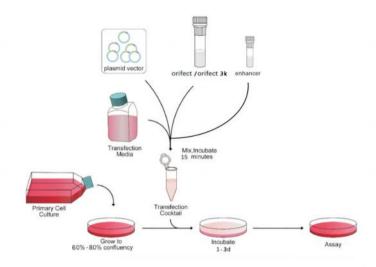
不同转染试剂的转染效率、细胞毒性、对正常生理学的影响和基因表达水平各不相同,其原理、应用与特点比较如下表 所示:

技术	原理	优点	缺点
阳离子聚合物	带正电的聚合物与核酸带 负电的磷酸基团形成带正 电的复合物后与细胞表面 带负电的蛋白多糖相互作 用,并通过内吞作用进入 细胞。	结果可重复 稳定性高,可长期储存,不易降解 低免疫原性,适合体内应用	多用于瞬时转染,较少 用于稳定转染; 大片段DNA转染效率 可能降低。
阳离子脂质体	通过正电荷与核酸结合形成"脂质复合物",复合物通过膜融合或内吞进入细胞。	操作快速简单 结果可重复 转染效率高 可转染DNA,RNA和蛋白质 适用于生产瞬时和稳定的蛋白质 可用于体内转染	部分脂质体对敏感细胞 (如神经元); 毒性较高; 血清的存在干扰复合物 的形成,导致低转染效 率。
磷酸钙共沉淀	DNA与氯化钙混合后加入 磷酸盐缓冲液,形成微细的 DNA-磷酸钙沉淀颗粒。颗 粒通过内吞作用进入细胞, 在低pH下溶解并释放DNA 到胞质或核内。	便宜且容易获得 适用于生产瞬时和稳定的蛋白质 转染效率高(不限制细胞系)	需仔细制备试剂,CaPO4 溶液对pH,温度和缓冲盐 浓度的变化敏感; 可重复性较差; 有细胞毒性,尤其对原代 细胞; 不能采用RPMI培养基,由 于其含高浓度的磷酸盐; 不适用于动物体内转染。

PEI转染试剂与脂质体转染试剂是目前使用最广泛的化学类细胞转染试剂,在基因功能研究、基因表达调控、突变分析,以及基因治疗、细胞治疗、蛋白生产、疫苗生产等方面应用广泛。



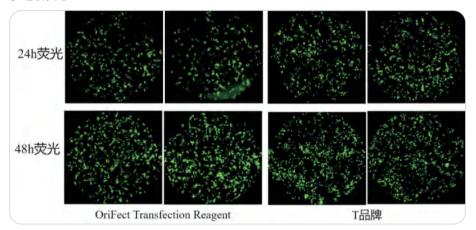
转染操作流程



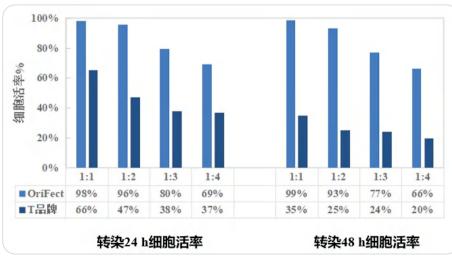
1. OriFect Transfection Reagent (阳离子聚合物转染试剂)

OriFect Transfection Reagent是一种高效的阳离子聚合物转染试剂。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,与细胞表面结合并通过非特异性内吞作用进入细胞。OriFect转染试剂与脂质体转染试剂相比具有以下优势: (1) 达到相同转染效率时细胞毒性更低; (2) 转染前无需更换培养基; (3) 转染过程中无需使用Opti-MEM等特殊培养基,降低了实验成本; (4) 转染操作简单,重复性好。

性能展示



上图:转染效率对比:分别用OriFect与进口T品牌L3000脂质体转染试剂,按说明书标准操作将EGFP表达质粒转入A549细胞,分别于转染后24h和48h观测转染荧光强度,结果显示在转染24h和48h后A549细胞荧光强度几乎一致,说明两者转染效率相当。

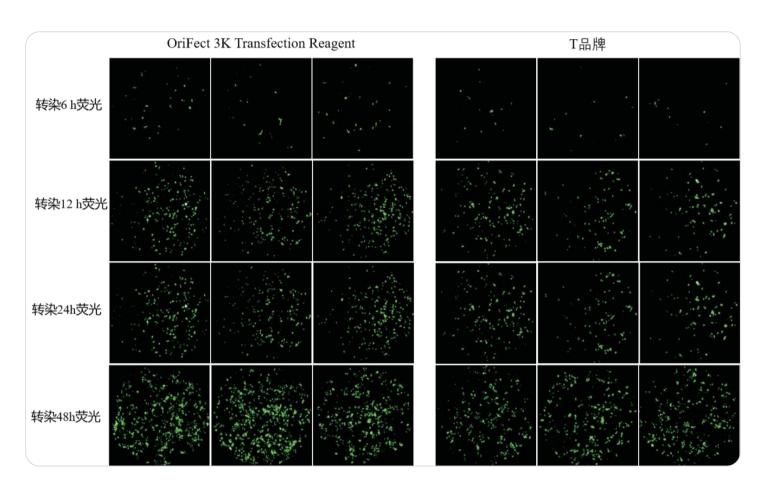


下图:细胞毒性对比:细胞毒性对比:质粒DNA (μg):转染试剂 (μL)分别按1:1,1:2,1:3,1:4的比例分别用OriFect与进口T品牌L3000转染试剂,按说明书标准操作将EGFP表达质粒转入A549细胞,转染48 h后的细胞活率检测结果显示OriFect细胞毒性明显低于L3000,从实验结果可看出OriFect是一款即能兼顾较高转染效率又具备较低细胞毒性的优质转染试剂。

2. OriFect 3K Transfection Reagent (脂质体转染试剂)

【L3000完美平替,无需优化更改转染条件】

OriFect 3K 转染试剂采用脂肪纳米微粒技术通过包裹DNA或RNA形成复合物导入到各种不同类型的贴壁和悬浮细胞内,实现多种难转染和常见细胞的高效转染,并表现出较低的细胞毒性。成功转染的细胞包括:C2C12、HuH7、HepG2、Hs578T、NCI-H460、A549、MCF7、L6 CRL-1458等。



分别用OriFect 3K与进口T公司L3000转染试剂将EGFP表达质粒按照相同的转染体系分别转染A549细胞,转染结果显示在相同转染体系下,OriFect 3K转染6h、12h、24h和48h的A549细胞荧光强度与进口T公司L3000试剂无任何差异,OriFect 3K是一款有较高性价比的脂质体转染试剂,可完美平行替代进口T公司L3000转染试剂且无需进行任何优化。

转染小贴士

- 转染质粒准备:转染前使用高纯度无内毒素转染级质粒,并检测转染质粒的浓度和纯度,如有必要也可以通过琼脂糖凝胶电泳检测转染质粒的完整性。
- 转染细胞准备:转染前使用保存适当和生长状态良好的健康细胞。确保细胞没有被细菌、真菌或支原体污染。若转染细胞是液氮冻存后首次复苏,建议在转染前至少传代两次,保证细胞生长状态良好,同时建议转染前保证细胞汇合度至少在60%及以上,确保转染效率。
- 细胞培养液准备: OriFect和OriFect 3K转染试剂均可滴加进含有血清的培养基中进行转染用,并且转染前不需要换培养基。但在制备转染复合物时要求用无血清培养基稀释DNA 和转染试剂,因为血清会影响复合物的形成。并在细胞培养和转染试剂配置之前确保细胞培养液没有被细菌、真菌或支原体污染。
- 质粒浓度和OriFec/OriFect 3K 转染试剂配比: DNA浓度和转染试剂使用量受细胞类型及其他实验条件影响,初次使用转染试剂前应根据说明书推荐配比进行预实验,确定最佳转染配比,以得到最大的转染效率。

转染试剂选购指南

产品货号	产品名称	产品规格	市场价
CC101-0.5 mL	OriFect Transfection Reagent(阳离子聚合物转染试剂)	0.5 mL	500.00
CC101-1 mL	OriFect Transfection Reagent(阳离子聚合物转染试剂)	1 mL	900.00
CC101-1.5 mL	OriFect Transfection Reagent(阳离子聚合物转染试剂)	1.5 mL	1400.00
CC102-0.1 mL	OriFect 3K Transfection Reagent (脂质体转染试剂)	0.1 mL	380.00
CC102-0.75 mL	OriFect 3K Transfection Reagent (脂质体转染试剂)	0.75 mL	2450.00
CC102-1.5 mL	OriFect 3K Transfection Reagent (脂质体转染试剂)	1.5 mL	3800.00

The Origin of Science 源于科学,服务科学

● www.oriscience.com→ 400-158-2128❷ order@oriscience.com四川省成都经济技术开发区(龙泉驿区)成龙大道二段1666号C3栋