影响细胞转染效率的 8 个因素

细胞转染指的是将外源分子如 DNA、RNA 等导入到真核细胞内部的技术。随着基因和蛋白功能研究的深入，转染已经成为科研实验中最常用的技术手段之一。对于细胞转染实验，转染试剂、转染方法、细胞状态等都会影响到细胞转染的效率，本文主要对影响细胞转染效率的 8 个因素做一介绍。

1. 转染试剂

瞬时转染和稳定转染可以选择不同的转染试剂，转染试剂的选择又可以根据已经发表的文献，已经有很多细胞株被成功转染，通过文献资料可以参考最适的转染试剂，当然也要根据不同的实验需求选择。一般来说转染试剂的要求是低毒，高效，廉价易得。

2. 转染方法

现在有多种方式能够实现细胞转染，如磷酸钙法，电穿孔法，脂质体转染法、逆转录病毒法（更多细胞转染方法）等等。不同的转染方式其转染效率也不尽相同需要根据细胞的性质及不同的操作手法，摸索最佳的转染条件。

3. 细胞状态

一般传代数小于 50 代以下的细胞即能保证基因型不变。瞬时转染最合适的细胞是达到对数生长期的细胞，此时细胞生长旺盛，最容易被转染。同一种系的细胞株，在不同实验室不同培养条件下，其生物学性状都会产生不同改变，从而导致其转染特性也发生变化。因此，针对这种转染效率降低的情况，应转用新鲜培养的细胞转染达到好的结果。

4. 载体构建

基因产物对细胞不能有毒害作用，瞬时转染难以进行。转染载体的构建选择可调控，强度合适的启动子很重要，可以做空载体或相同载体的其他基因为对照排除毒性对细胞的影响。 病毒载体对特定宿主细胞感染效率较高，但不同病毒载体有其特定的宿主，有的还要求特定的细胞周期，如逆转录病毒需侵染分裂期的宿主细胞。

5. 细胞培养基

培养基是瞬时转染的最基本要素。不同细胞选择不同的培养基，血清和其他添加物。使用的转染试剂要参考其说明书。培养物一定要避免细菌，支原体真菌的污染。

6. 血清

血清是一种包含生长因子及其它辅助因子的成分不明确添加物，对不同细胞的生长作用有很大的差别。血清质量的变化直接影响细胞生长，因此也会影响细胞转染效率，不同批次购买的血清质量也会存在差别。对于传统的转染方法要求在无血清培养基条件下转染，血清被认为会降低瞬时转染的效率。针对现有人们常用的的转染试剂来说，血清的存在已不会影响转染效率，甚至还有助于提高转染效率。在转染过程中完全可以使用血清，针对 RNA 转染，消除血清中潜在的核糖核酸酶污染要格外关注。且血清比较珍贵，胎牛血清，马或牛血清都常被用到，价格也不尽相同，根据自身选择。

7. 细胞密度

细胞密度对转染效率也有一定影响，一般转染时贴壁细胞密度为 50-90%，具体要根据选用的转染试剂的说明书。不同的转染试剂最适的细胞密度各不相同，即使同一种试剂，也会因不同的细胞类型或应用而异。

例如阳离子脂质体具有微量的细胞毒性而要更高的细胞铺板密度或更多的悬浮细胞数， 尽量在细胞最适的生理状态下转染，以求最佳的转染效果。

8. DNA 质量

针对一般常用的转染技术都是基于电荷吸引的原理转染的，如果 DNA 的纯度不高，存在其他杂质，如盐离子等都会影响转染复合物的形成。针对市面上现有的超纯质粒抽提的试剂盒，能达到非常高的纯度效果，从而可以避免 DNA 纯度的影响。

相关阅读

细胞的瞬时转染

细胞的稳定转染

更多优质服务推荐

1 SingleB® mAb Discovery Service

SingleB®单B细胞快速单抗发现

德泰生物提供SingleB®单B细胞快速单抗发现服务，利用SmartFlow® FACS记忆B细胞筛选平台与DeepLight®浆细胞筛选平台，实现记忆B细胞与浆细胞的双筛选。平台适用于小鼠、兔、羊驼、人源化小鼠、绵羊等多种免疫对象，从动物免疫到获得单抗，快至29天，比传统杂交瘤技术至少节省120天。

平台优势

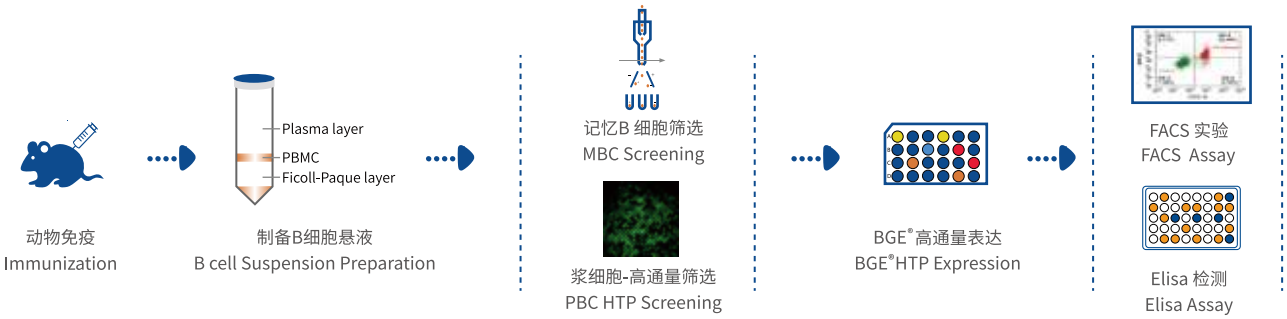
- 支持蛋白、多肽、细胞、病毒等多种类型抗原免疫
- 记忆B细胞 & 浆细胞双筛选，保证B细胞多样性
- 单细胞扩增阳性率高，无需刺激培养，减少多样性损失
- 重轻链天然配对，亲和力更优
- 高通量，周期短，单抗发现快至29天
- ELISA、FACS、WB、IHC等多平台验证

可开发单抗物种

小鼠　兔　羊驼　人源化小鼠

猪　犬　绵羊　人

服务流程



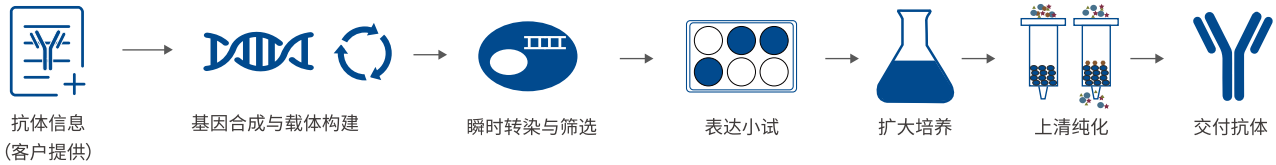
Recombinant Antibody Expression Service

2 重组抗体表达

德泰生物拥有完善的重组抗体表达与纯化体系、抗体多工艺质量验证体系。已交付的重组抗体项目种类包括scFv、Fab、$(Fab')_2$、VHH、嵌合抗体、双特异性抗体、Fc融合蛋白、全长IgG、IgM。cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器用于HEK293/CHO细胞的小试及大量培养。HPLC纯度、内毒素、浓度等要求均可以根据您的下游应用进行定制。

服务优势

服务流程

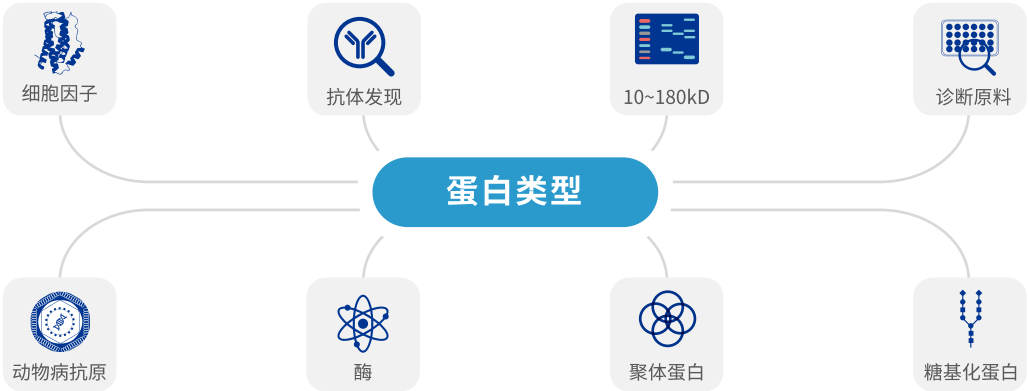


Recombinant Protein Expression Service

3 重组蛋白表达

原核蛋白表达系统、哺乳动物细胞蛋白表达系统

德泰生物拥有完善的原核蛋白表达与纯化体系和哺乳动物细胞蛋白表达与纯化体系。基于细胞因子、酶、诊断原料蛋白的工业化需求，我们配备了发酵设备并推出了大规模发酵制备服务；我们还配备了cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器，用于HEK293/CHO等真核细胞的小试及大量培养。



4 Hybridoma Antibody Gene Sequencing Service
杂交瘤抗体基因测序

德泰生物拥有mRNA全长测序平台和Failsafe®假基因排除技术，能够提供快速、可靠的杂交瘤抗体基因测序服务。

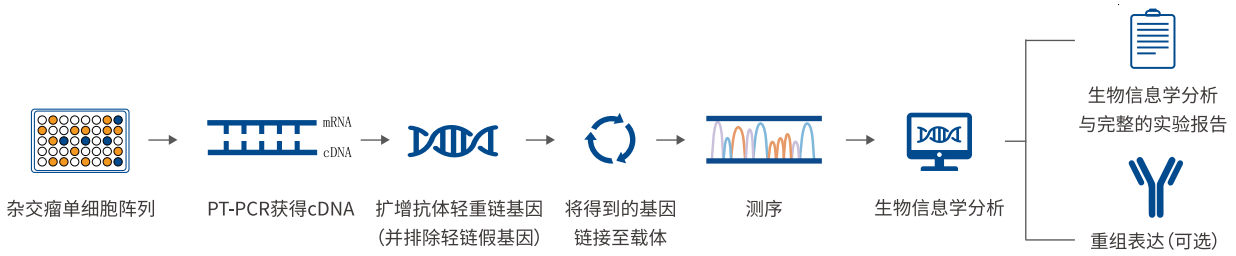
应用场景

- 抗体序列保护：获取抗体基因序列后可通过专利对CDR区进行保护。
- 生产方式备份：杂交瘤存在退化转阴风险，抗体序列可通过基因工程方式轻松转化为抗体样品。
- 抗体工程改造：获得的抗体序列可用于抗体人源化、双特异性抗体等抗体工程改造。

服务优势

- 极速体验：测序5天，表达5天，全程高通量
- 细胞需求少：只需1~5个细胞，可以接收孔板样品
- 保证测序结果准确：采用Failsafe®假基因排除技术，可排除κ轻链假基因
- 测序范围广：可测小鼠、大鼠、兔、羊等物种的IgM和IgG的所有亚型
- 一站式服务：德泰生物拥有丰富经验，可提供表达验证服务

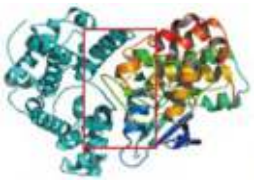
服务流程



5 Biomolecular Interaction Analysis Service
分子间相互作用检测

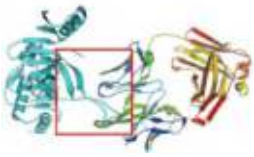
德泰生物提供的分子间相互作用检测服务基于表面等离子共振（SPR）平台及生物膜干涉技术（BLI）平台，能够实现对分子间亲和力的定量和定性分析。与传统的GST pull down，免疫共沉淀，酵母双杂交等相比，具有更高的灵敏度、检测通量及较低的样品要求等优点。

检测范围


蛋白和蛋白

蛋白和小分子

蛋白和抗体


蛋白和抗体Fab片段

检测范围包括蛋白-蛋白、抗体-抗原、抗体片段-抗原、蛋白-抗体、蛋白-小分子、抗体-多肽、蛋白-DNA、DNA-DNA间的相互作用。

6 Antibody Humanization Service
抗体人源化

德泰生物人源化改造服务基于人工智能之深度学习算法，通过构建抗体结构模型、CDR移植与回复突变、识别关键氨基酸及人源化运算，获得人源化程度高且突变能低的抗体序列。

服务优势

- 重链和轻链同时参与优化
- 改造后的抗体人源化程度>90%
- 人源化抗体的亲和力与初始抗体相当
- 可进行多物种的抗体人源化

服务流程

1. Antibody sequence confirmation
2. Human germline acceptor selection
3. CDR grafting
4. Back mutation
5. Mutation energy ranking
6. Antibody expression
7. Affinity ranking

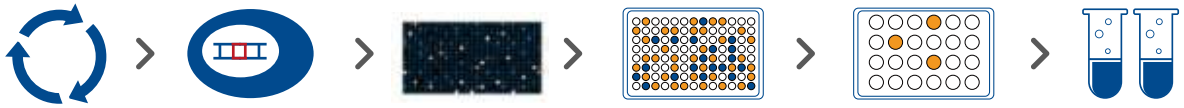
7 Stable Cell Line Development Service
生产型稳转细胞株构建

德泰生物提供高表达哺乳动物稳定细胞株构建服务，筛选过程使用先进的可视化DeepLight®单克隆细胞筛选平台，较传统筛选流程快近100天，大大缩短了稳定细胞株的开发周期。

DeepLight®细胞筛选平台的优势

	有限稀释法筛选	DeepLight® On-chip筛选
筛选时间	8周	1天
细胞分离效率	低	高
筛选通量	低	高
单细胞水平筛选	否	是

服务流程



基因合成&质粒抽提 > 稳定转染 > On-chip筛选 > 压力筛选 > 扩大培养 > 交付单克隆细胞株

服务优势

更快的筛选速度	百k级筛选通量	可视化筛选结果	稳定高产
从DNA到细胞株 较传统方法快近100天	一次筛选640k细胞 优选高表达细胞株	先进DeepLight®平台 高表达细胞株实时成像	可稳定转代50代 重组单抗可达5 g/L