

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	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	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	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	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) 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	瞬时转染
		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	
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	稳定转染
		b) 利用病毒介导转染 , 外源基因整合较稳定	特定细胞
		c) 逆转录病毒只选择感染分裂细胞	转染
		d) 容纳外源基因长度 <8kb	

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 , 摆匀 , 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

更多优质服务推荐



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

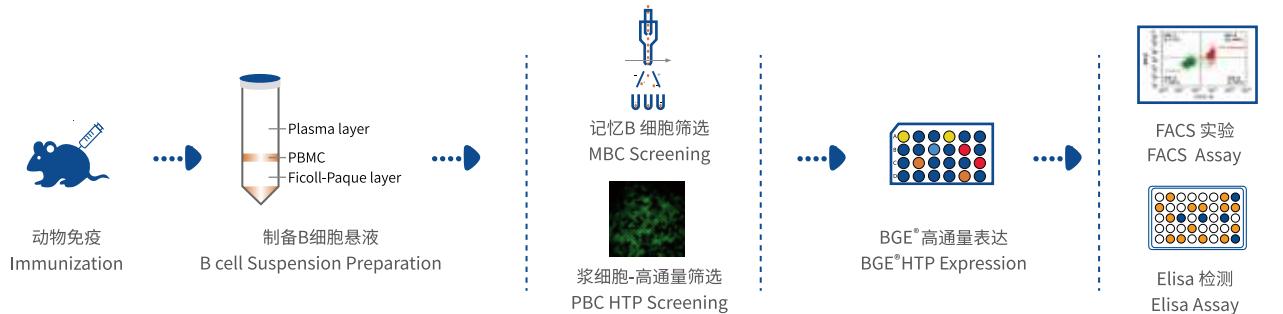


绵羊



人

服务流程





Recombinant Antibody Expression Service

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

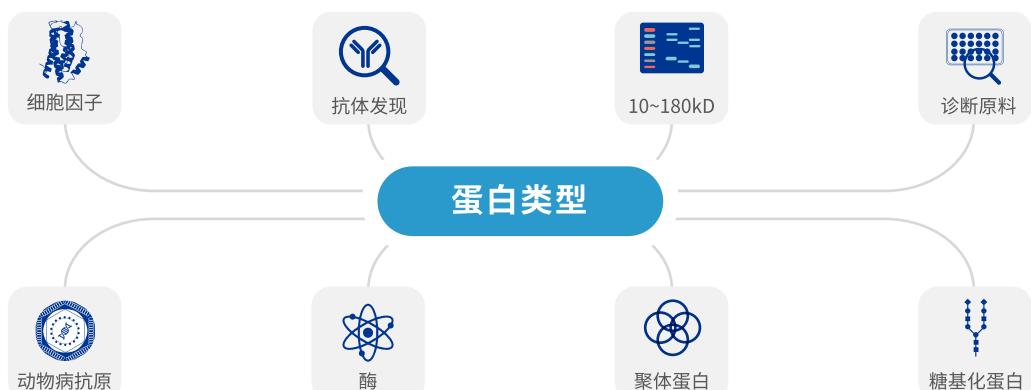


Recombinant Protein Expression Service

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。

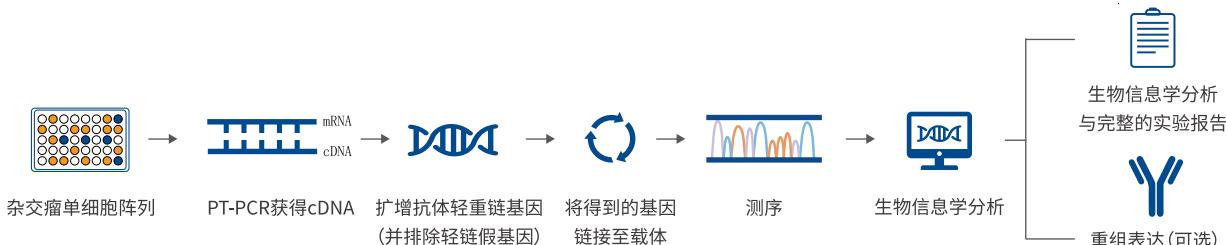
应用场景

- 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



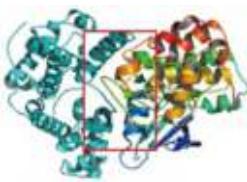
5

Biomolecular Interaction Analysis Service

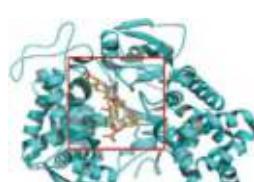
分子间相互作用检测

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。

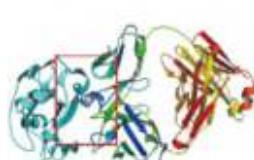
检测范围



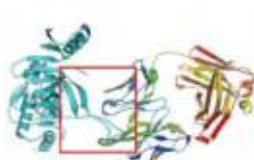
蛋白和蛋白



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。



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



Stable Cell Line Development Service

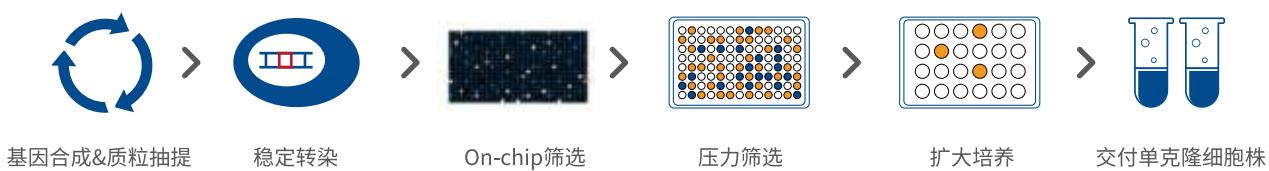
生产型稳转细胞株构建

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



服务优势



更快的筛选速度

从DNA到细胞株
较传统方法快近100天

百k级筛选通量

一次筛选640k细胞
优选高表达细胞株

可视化筛选结果

先进DeepLight®平台
高表达细胞株实时成像

稳定高产

可稳定转代50代
重组单抗可达5 g/L