

瞬时转染与稳定转染

哺乳动物细胞表达系统具有促使蛋白正确折叠和实现复杂修饰的功能，表达的蛋白更近天然状态，能够运用于制药等活性要求高的领域。利用哺乳动物细胞表达系统生产蛋白通常有两种方式：[瞬时转染](#)与[稳定转染](#)（构建稳定细胞系），这两种方式在原理、操作流程、应用场景上均有所区别，本文主要就瞬时转染与稳定转染之间的区别做一个介绍。

瞬时转染与稳定转染实验原理的异同

瞬时转染与稳定转染都是将目的基因转染至特定哺乳动物细胞内，进而表达得到目的蛋白。不同的是瞬时转染的方式外源基因并没有转染到细胞的染色体上而是存在于游离的载体上，这样可以在短时间内获得基因的表达产物，但是随着细胞的不断分裂增殖外源基因最终会丢失，无法继续进行重组蛋白的生产；而利用细胞稳定转染则会将外源基因转染至细胞染色体上，目的基因不会随着细胞传代而消失，稳定转染的细胞株能够长期稳定的生产目的蛋白。

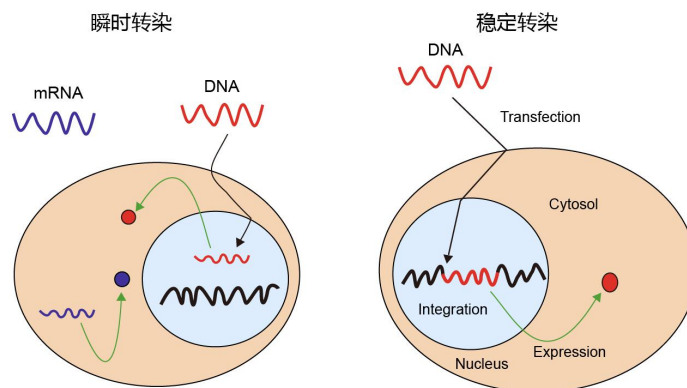


图 1：瞬时转染与稳定转染原理对比

实验操作的差别

1. 瞬时转染与稳定转染所用的质粒是不同的，瞬转的质粒不需要带有抗性，而用于稳定转染的质粒一定要带有特定的抗性以便于后续的克隆株筛选。另外，两者所用的培养基及实验试剂也有所区别。
2. 瞬时转染的操作比构建稳定细胞系的操作简单，构建好质粒后，经过细胞复苏、转染、[细胞培养](#)、蛋白纯化等步骤即可得到目的蛋白；而构建稳定细胞系需要先将构建好的质粒线性化，再导入培养好的哺乳动物细胞内，通过一

定的转染方式实现质粒与细胞的融合，接着经过细胞池筛选、单克隆筛选、细胞传代培养等步骤才能得到稳定转染的细胞系。对稳定细胞系进行培养能够长期稳定的生产目的蛋白。

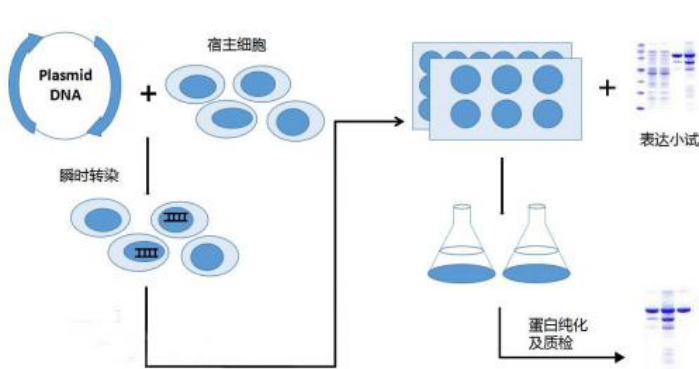


图 2：瞬时转染实验流程

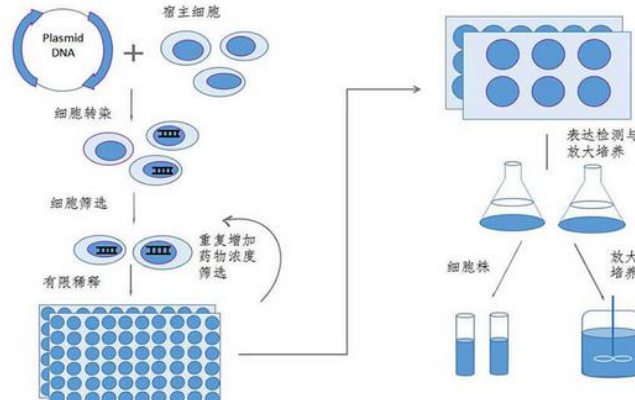


图 3：细胞稳定转染实验流程

瞬时转染与稳定转染优缺点对比

	瞬时转染	稳定细胞系构建
优点	1. 能够快速生产得到微量至中量的重组蛋白 2. 实验成本低 3. 一个宿主可以带有多个拷贝，表达效率高	1. 能够长期稳定生产目的蛋白 2. 得到稳转株之后后续生产蛋白的成本大大降低 3. 能够对基因进行基因插入、基因敲除等编辑操作
缺点	无法长期生产得到重组蛋白	实验成本高、周期长、操作难度大

应用场景

瞬时转染表达和稳定转染表达最显著的区别就是在时间上。瞬时转染在转染后四天即能收获细胞，瞬时转染一般用于基因产物的短期表达、蛋白质的小规模合成。相对于瞬时转染，稳定转染表达适用于长期的药理学研究遗传调控机制研究及大规模的蛋白质合成，需要大量的周期，因此更费力成本投入高。目前，在进行哺乳动物细胞蛋白表达时，因为细胞培养技术的进步和人们对瞬时转染的不断探索，人们已经可以对一些常用细胞进行悬浮培养，实现了瞬时转染对重组蛋白的大规模合成，节省了时间和成本。

相关阅读

[瞬时转染及稳定转染实验操作流程介绍](#)

更多优质服务推荐

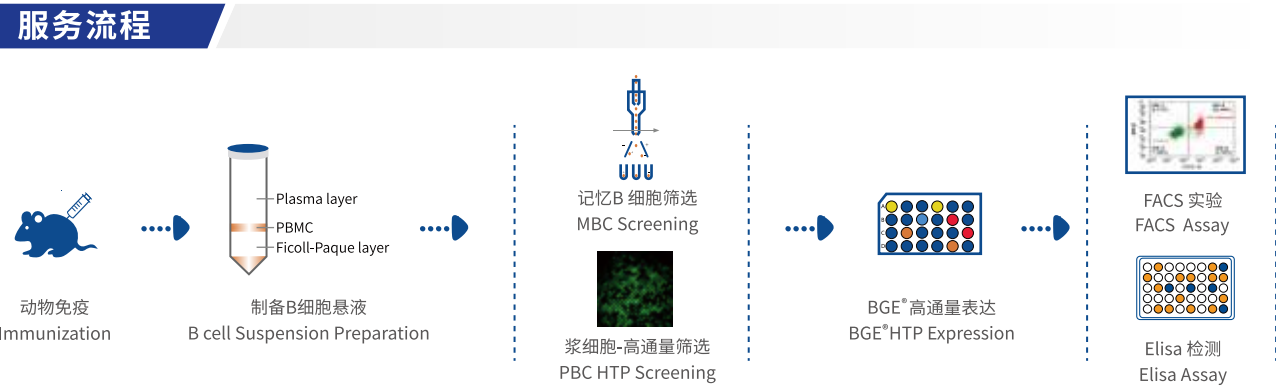
1

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





Recombinant Antibody Expression Service

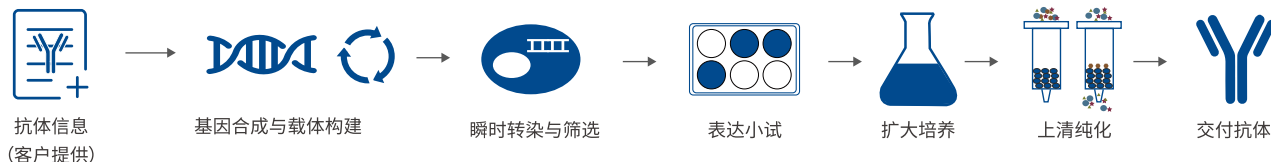
重组抗体表达

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、 $(\text{Fab}')_2$ 、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

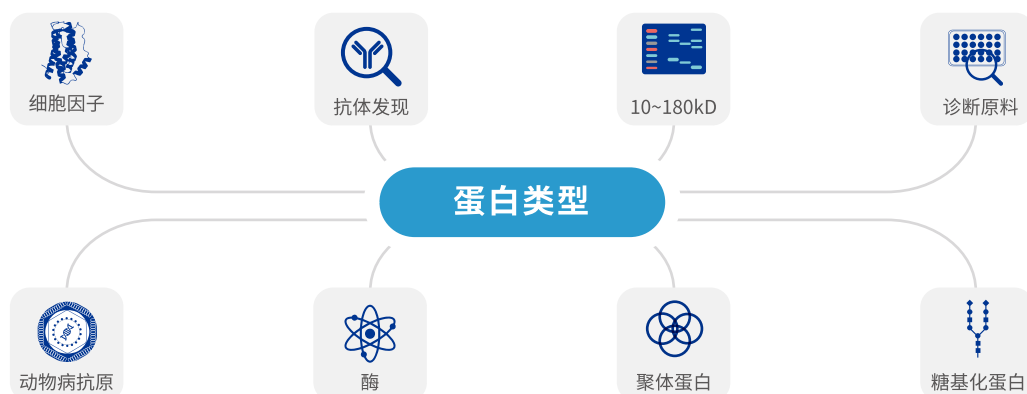


Recombinant Protein Expression Service

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。

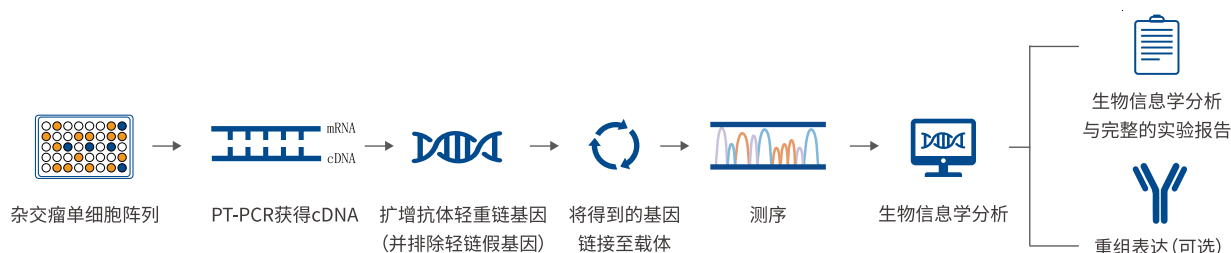
应用场景

- 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



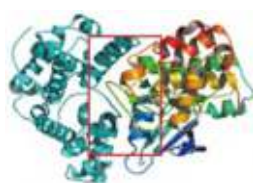
5

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。

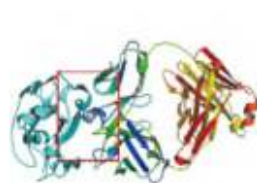
检测范围



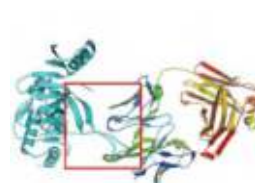
蛋白和蛋白



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



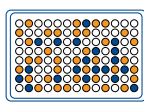
基因合成&质粒抽提



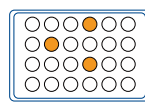
稳定转染



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

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