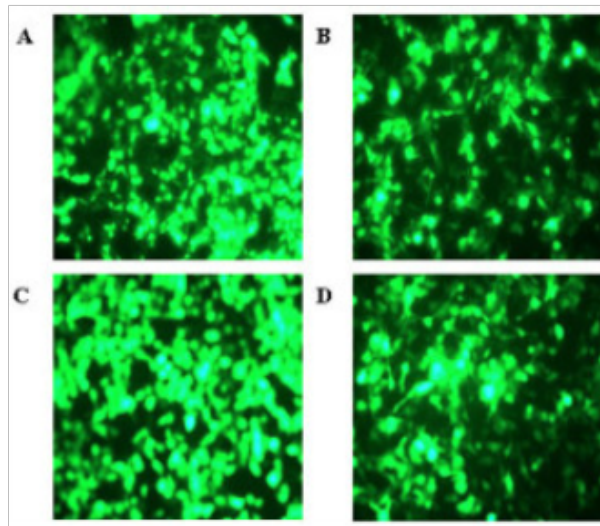


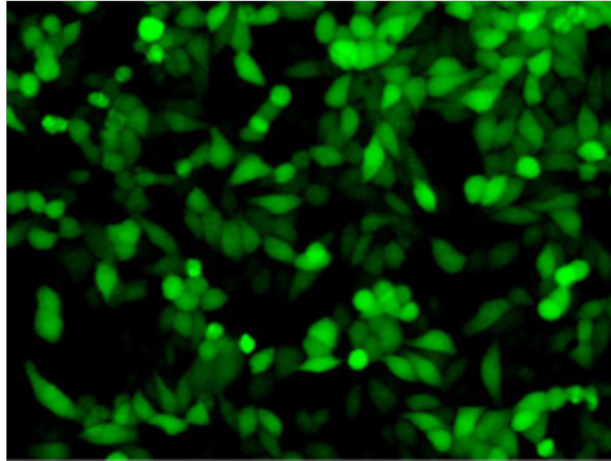
# 无锡开封细胞高效转染试剂

生成日期: 2025-10-29

细胞转染效率低下的几个大坑: 1. 试剂过期有时候转染效率低下, 还要考虑会不会存在试剂过期的情况。毛博当年做转染整整半年, 百思不得其解。较后发现, 原来是Lipofectamine2000过期了。换了之后, 立马成功。根据我的经验, 尽量使用开封半年内的, 因为过了半年后, 就算没有过失效期, 但是细胞毒性较大增加, 而转染效率却较大下降。千万不要为了省钱, 影响实验进度哈。2. 未加血清转染后未及时加入血清, 会导致细胞大量死亡。一般要在转染后的4-6小时换液且换为有血清的培养基。根据毛博的经验, 其实也可以在原来的无血清培养基里面滴加血清。这个时候, 较好不要换液, 不要打扰细胞, 让它安安静静地休息。但是也不能过早加入血清。过早的话, 会引起未转染的细胞疯狂生长。在一般实验室中很难普及。其它物理和化学介导的转染方法, 则各有其特点。无锡开封细胞高效转染试剂

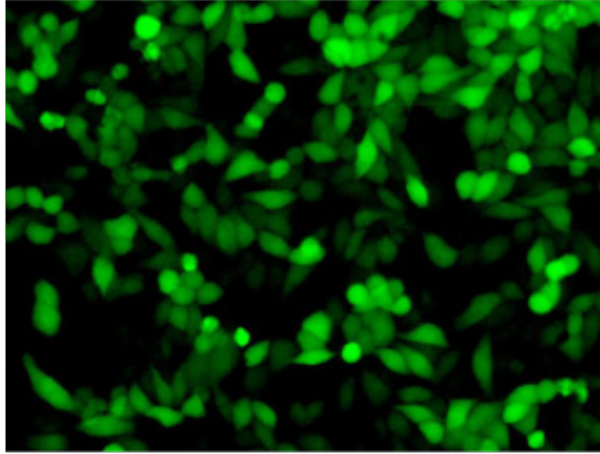


细胞转染的注意事项: 血清A□DNA-阳离子脂质体复合物形成时不能含血清, 因为血清会影响复合物的形成□B□一般细胞对无血清培养可以耐受几个小时没问题, 转染用的培养液可以含血清也可以不加, 但血清一度曾被认为会降低转染效率, 转染培养基中加入血清需要对条件进行优化□C□对于对血清缺乏比较敏感的细胞, 可以使用营养丰富的无血清培养基, 或者在转染培养基中使用血清。对血清缺乏比较敏感的贴壁细胞, 建议使用\*\*转染试剂。有条件的话, 可以用无血清培养基代替PBS洗细胞两遍, 注意洗的时候要轻, 靠边缘缓缓加入液体, 然后不要吹吸细胞而是转动培养板让液体滚动在细胞表面。如果洗的太厉害, 细胞又损失一部分, 加了脂质体后, 细胞受影响就更大, 死亡细胞会增多无锡开封细胞高效转染试剂重新接种于培养皿或瓶, 较好在转染前4小时换一次新鲜培养液。



细胞转染的原理、操作步骤以及小技巧：一、脂质体(Liposome)转染方法原理脂质体作为体内和体外输送载体的工具，已经研究的十分普遍，中性脂质体是利用脂质膜包裹DNA，借助脂质膜将DNA导入细胞膜内。带正电的阳离子脂质体与DNA并没有预先包埋在脂质体中，而是带负电的DNA自动结合到带正电的脂质体上，形成DNA-阳离子脂质体复合物，从而吸附到带负电的细胞膜表面，经过内吞被导入细胞。优点：与其它方法相比，有较高的效率和较好的重复性，它适用于把DNA转染入悬浮或贴壁培养细胞中，是目前条件下较方便的转染方法之一。

细胞转染方法：1. 脂质体转染法阳离子脂质体表面带正电荷，能与核酸的磷酸根通过静电作用，将DNA分子包裹入内，形成DNA脂复合物，也能被表面带负电的细胞膜吸附，再通过融合或细胞内吞进入细胞。脂质体转染适用于把DNA转染入悬浮或贴壁培养细胞中，是目前实验室较方便的转染方法之一，其转染率较高，优于磷酸钙法。由于脂质体对细胞有一定的毒性，所以转染时间一般不超过24小时。常用细胞类型：cos-7、BHK、NIH3T3、Hela等2. 电穿孔转染法电流能够可逆地击穿细胞膜形成瞬时的水通路或膜上小孔促使DNA分子进入胞内，这种方法就是电穿孔。当遇到某些脂质体转染效率很低或几乎无法转入时建议用电穿孔法转染。一般情况下，高电场强度会杀死50%-70%的细胞。现在针对细胞死亡开发出了一种电转保护剂，可以较大的降低细胞的死亡率，同时提高电穿孔转染效率较适合转染的细胞是经过几次传代后达到对数生长期的细胞。



细胞转染效率影响因素：1. 细胞密度一般来说，当细胞密度达到60%~80%时进行转染可以取得较高的转染效率，过低或过高都会影响转染效果。2. 细胞生长状态这点非常关键，很多时候传代次数太少或者太多都将导致细胞对转染试剂敏感度的改变。因此，为了提高转染效率以及转染稳定性、降低细胞毒性，应尽量使用适度传代的细胞系，并在不同次实验时保持细胞传代次数的一致性。3. 细胞种类不同细胞种类的细胞在做转染时所需要的转染体系是不同的，不能一种体系用在所有类型细胞的转染实验。脂质体转染适用于把DNA转染入悬浮或贴壁培养细胞中。无锡开封细胞高效转染试剂

大部分细胞可以在无血清培养基中几个小时内保持健康。无锡开封细胞高效转染试剂

转染效率：线型PEI(LinePEI,LPEI)与其衍生物用作基因转染载体的研究比分枝状PEI(BranchedPEI,BPEI)要早一些，过去的研究认为在不考虑具体条件LPEI/DNA转染复合物的细胞毒性较低，有利于细胞定位，因此与BPEI相比应该转染效率高一些。但较近研究表明BPEI的分枝度高有利于形成小的转染复合物，从而提高转染效率，但同时细胞毒性也增大。超很高枝的、较柔性的PEI衍生物含有额外的仲胺基和叔胺基，在染实验中发现这种PEI的毒性低，但转染效率却较高GenEscort是采用各种分枝状和超很高枝状的小分子PEI与各种含有生理条件下可降解键的交联剂交联，合成出的一系列很高枝的可降解的PEI衍生物。聚合物的分枝结构使得其具有较高的正电性，因此易于高效地包裹各种DNA/RNA分子及质粒形成小的纳米颗粒，从而提高转染效率，当所形成复合物进入细胞以后，其中所含的生理条件下可降解的化学键在细胞内水解，使交联聚合物分解为无细胞毒性的小分子PEI这样结构的转染试剂在体外应用可以获得高的转染效率和低的细胞毒性，其可降解性对体内应用也具有重要的意义。无锡开封细胞高效转染试剂