



引言

转染是细胞生物学、基因表达、基因抑制和基因组编辑实验中的关键步骤。Invitrogen™ Lipofectamine™试剂是全球科学文献最常引用的转染试剂，拥有300,000多条引用记录，在性能方面领先30余年。高品质的脂质体转染试剂和电穿孔产品适用于各种细胞类型和应用。如今，细胞转染和基因组编辑的研究不断发展，促进了本文所述的电穿孔系统和专用于外源分子递送试剂的日益普及。

目录

什么是转染?	4
转染方法	4
选择正确的转染方法	7
成功转染必备检查清单	7
<hr/>	
受全球科学家青睐的Invitrogen转染试剂	8
DNA	9
siRNA	11
mRNA	12
用于CRISPR-Cas9的核糖核蛋白	13
干细胞	14
电穿孔	15
产品选择指南	17
<hr/>	
相关产品	18
<hr/>	
订购信息	19
<hr/>	

什么是转染?

所谓转染是在体外或体内将外源物质(如DNA、RNA或蛋白质)导入真核细胞中的过程。

该过程通常用于基因表达、RNA干扰(RNAi)、基因组编辑、生物制剂生产中的蛋白质表达,以及细胞和基因治疗研究中的病毒生产。

转染方法

转染技术分为物理转染法、化学转染法和生物转染法。最佳转染方法的选择取决于所转染细胞的类型、递送外源分子的类型和大小、转染效率、期望细胞活性、反应规模、通量和预算。

化学方法

阳离子脂质体转染是目前最常用的化学转染法。该方法最大的特点是易于使用,可利用专门用于广泛细胞类型和外源分子的高性能试剂来进行。该方法还与高通量应用兼容,并且每次反应所需的成本通常低于其他方法。阳离子脂质体转染依赖于带负电荷的递送外源分子(例如DNA)和转染试剂之间形成复合物(图1)。也可以使用其他类型的化学方法,如利用磷酸钙和阳离子聚合物。

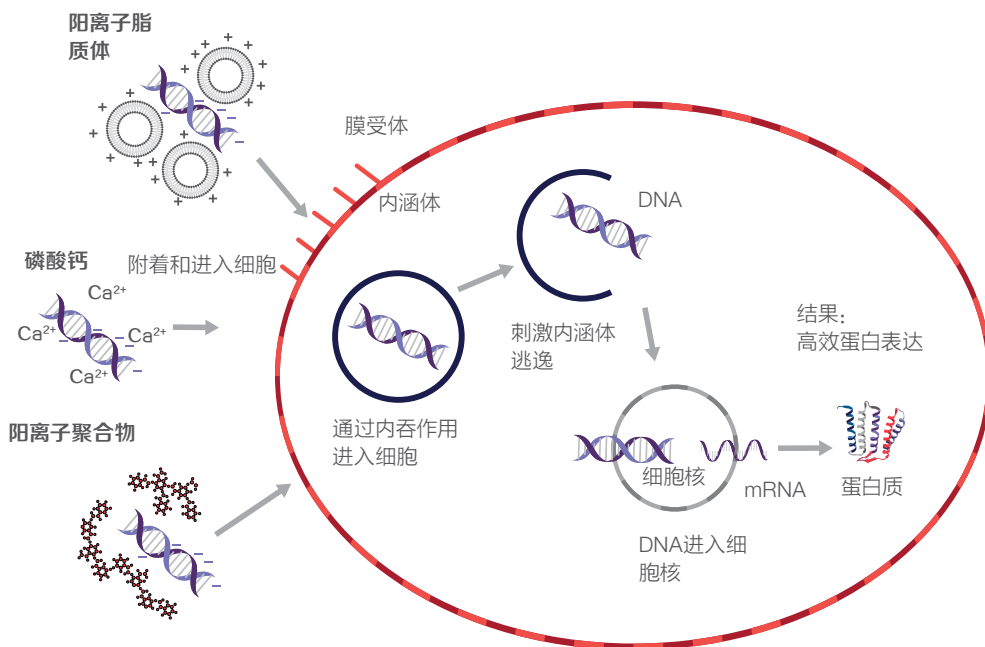


图1. 使用阳离子脂质体或其他化学试剂的转染机制。试剂-DNA复合物的正表面电荷使其能够附着到带负电荷的细胞表面,并通过内吞作用进入细胞。从内涵体逃逸后, DNA在细胞核中经转录形成mRNA,并在细胞质中翻译成蛋白质。mRNA将直接在细胞质中翻译。

物理方法

电穿孔是最广泛使用的物理转染法,即使是难以转染的细胞类型,该方法也可以实现高转染效率,同时兼具了易用性和生物安全性。由于对于免疫细胞的有效性,该方法在细胞治疗应用中迅速普及。电穿孔利用电脉冲产生临时孔,使外源分子能够穿过细胞膜(图2)。通过调整电穿孔参数,如电压、持续时间、脉冲数、细胞密度和外源分子量,可以获得最佳转染效果。也可以使用其他类型的物理方法,例如显微注射和超声细胞穿孔。

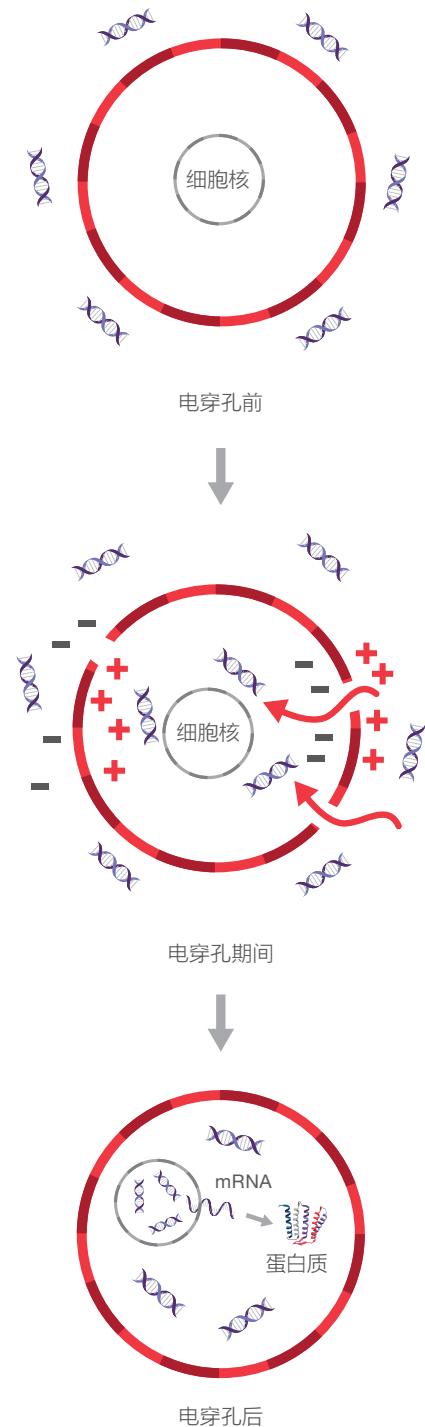


图2. 使用电穿孔法的转染机制。在电穿孔之前,细胞膜是完整的,外源分子(如DNA)位于膜外。当电场作用于细胞膜上时,会形成多个孔,允许外源分子进入细胞。电穿孔后,细胞膜恢复原状,外源分子分布在细胞质和细胞核中。

生物学方法

病毒介导的转染又称为转导，该方法利用慢病毒载体、腺相关病毒（AAV）和逆转录病毒载体等病毒载体将基因送入细胞中，包括难以转染的细胞系（图3）。病毒载体在细胞、基因治疗和疫苗开发等领域中应用广泛。

病毒转导的主要优点之一在于，该过程可以在活体内或培养细胞中进行，基因递送效率达100%。

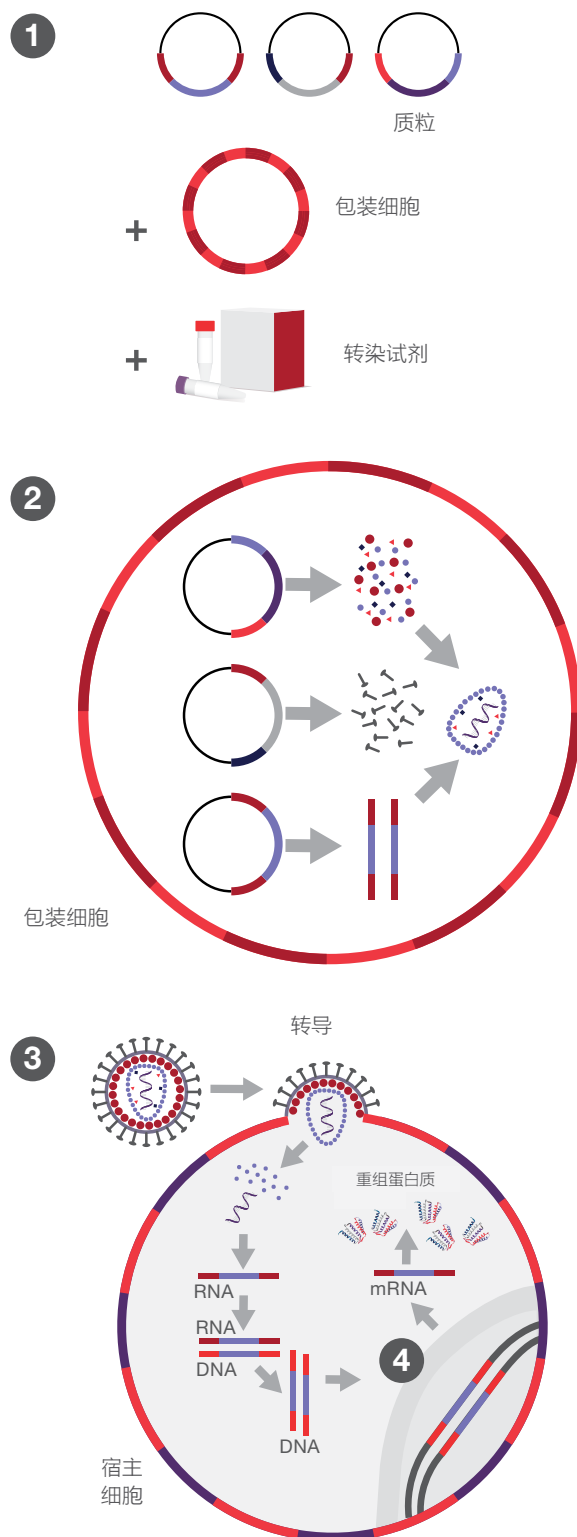


图3. 制备病毒载体并将其用于靶细胞的重组蛋白表达。(1)用三或四个编码目标基因和必需病毒蛋白的质粒转染包装细胞（如HEK293）。(2)病毒在包装细胞中组装，然后收集并纯化。(3)利用病毒转导靶细胞，释放目标基因。(4)在本例中，来自慢病毒载体的RNA经反转录形成DNA，DNA再整合至宿主基因组进行重组蛋白表达。

选择正确的转染方法

理想的转染方法应始终提供高转染效率、低细胞毒性, 并满足对实现目标至关重要的其他标准(表1)。

表1. 选择正确转染方法的重要因素

选择标准	阳离子脂质体 化学方法	电穿孔 物理方法	病毒递送 生物学方法
效率: 易转染细胞	+++	+++	+++
效率: 难转染细胞	++	+++	+++
细胞活性	+++	++	+++
大型外源分子的递送 (>7 kb)	++	+++	++
高通量适用性	+++	++	+++
易用性	+++	+++	+
生物安全性	+++	+++	+
单次反应的成本	+++	++	+

+++ 非常适合大多数应用; ++ 适合某些应用; + 我们最不推荐的方法, 但可能适用于某些应用。

成功转染必备检查清单

当选定转染方法后, 您可以参考下方简明的检查清单和所选产品的方案来确保成功转染。

- 在含添加剂的培养基中生长细胞, 并保持细胞处于对数生长期
- 使用低传代数的无污染细胞
- 转染前将培养细胞活性保持在90%以上, 不使用抗生素
- 制备无内毒素的高质量质粒DNA或其他外源分子
- 在融合度达到50-80%时转染细胞(取决于细胞系; 参考产品具体方案)
- 设计合适的阳性和阴性对照, 以便在转染过程中使用
- 为您的实验优化转染条件, 如细胞密度、外源分子量、外源分子与试剂比或电穿孔参数
- 确定转染后的最佳检测类型和分析时间点

受全球科学家青睐的Invitrogen转染试剂



Lipofectamine试剂是全球科学期刊中引用次数极高的转染试剂

来自101个国家的科学家使用Lipofectamine试剂进行研究

深受全球信赖的转染试剂

世界20强名校的选择

为全球前20大药企所用

300,000 次引用, 且数字仍在不断增加

助力科学发现

Invitrogen Lipofectamine 转染试剂因其卓越的转染性能而成为科学文献中深受信赖和引用次数极高的试剂。针对不同的外源分子和细胞类型, 可提供适合大多数实验的试剂。

1. Felgner PL et al. (1987) Lipofection: A highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:7413-7417.

2. Fire A et al. (2001) Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9442-9747.

3. Mali P et al. (2013) RNA-guided human genome engineering via Cas9. *Science* 339:823-826.

4. Walls AC et al. (2020) Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell* 181:281-292.

脂质体介导的DNA递送

Lipofectamine 3000转染试剂和P3000试剂



Invitrogen Lipofectamine 3000转染试剂和P3000™ 试剂是我们最推荐的DNA递送试剂, 可为最难转染的细胞处理提供助力。可优化的、高效的二管配方(图4)可实现超高灵活性, 您可以根据特定细胞类型(包括原代细胞、干细胞和癌细胞系)的需求设计转染流程。

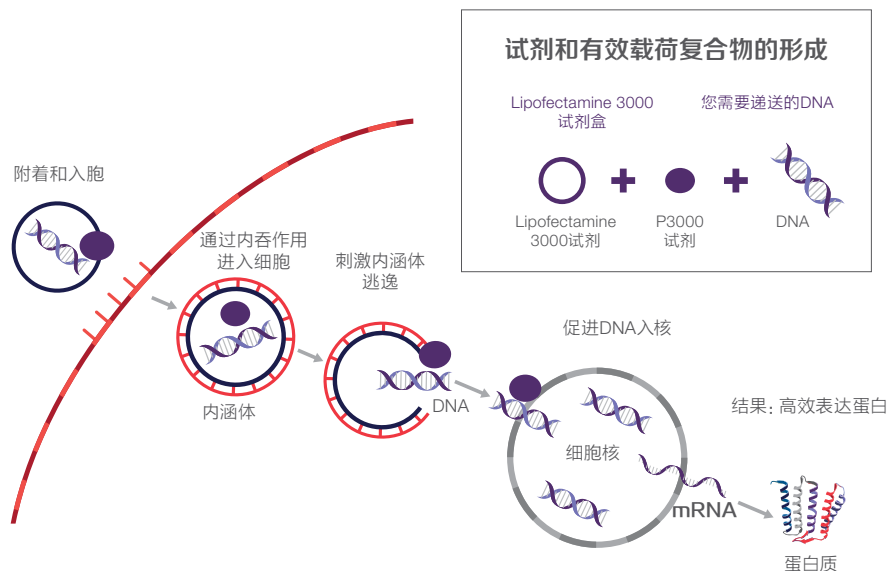


图4. Lipofectamine 3000试剂和P3000试剂的复合物形成及转染机制。

对于需要一种试剂来对多种易转染、中等难度或难转染的细胞系进行转染的实验时, Lipofectamine 3000试剂和P3000试剂是用于DNA递送的最佳选择(图5)。

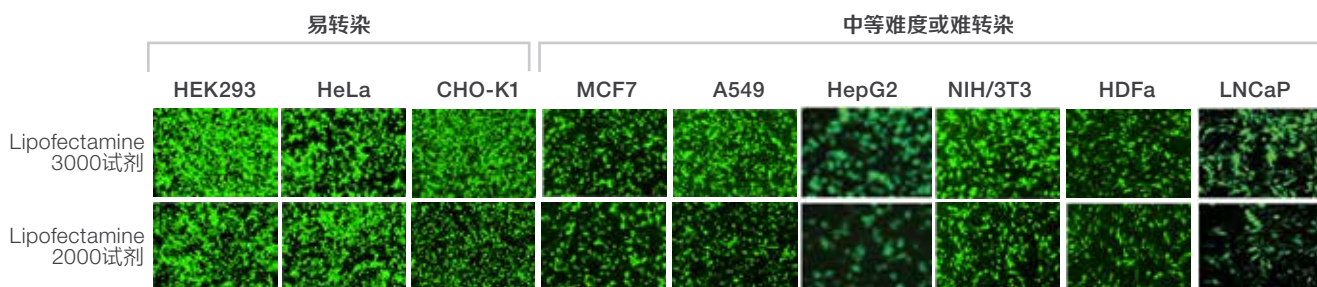


图5. Lipofectamine 3000或Lipofectamine 2000试剂用于在96孔板中转染HEK293、HeLa、CHO-K1、MCF7、A549、HepG2、NIH/3T3、HDFa和LNCaP细胞。转染48小时后分析GFP表达。Lipofectamine 3000试剂对所有9种细胞系均具有较高的转染效率, 尤其是较难转染的细胞系。

Lipofectamine 2000转染试剂



Invitrogen Lipofectamine 2000转染试剂是科学文献中引用极高的转染试剂之一(图6),非常适用于常见且易转染的细胞类型。它被广泛应用于要求可靠性的转染实验,使研究人员能够专注于更重要的变量。这种广谱的多功能性源于简单的实验方案和广受认可的跨应用工作能力。

- 能够为自动化或机器人系统轻松创造转染条件,适合进行高通量工作。
- 是建立稳定细胞系和转染神经元细胞的最佳选择。
- 质粒DNA和siRNA共递送性能出众。

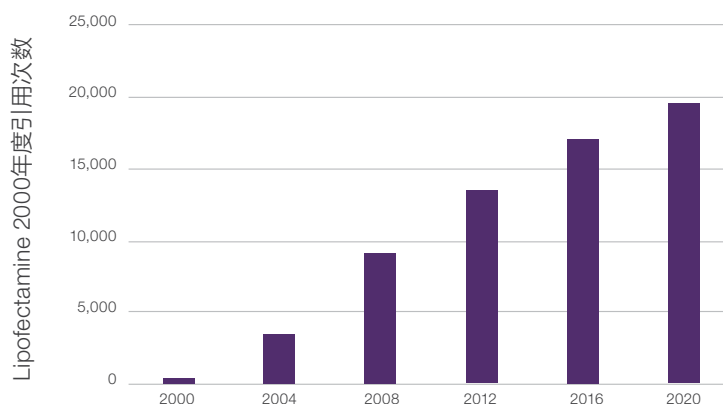


图6. Lipofectamine 2000自上市以来的引用次数。来源: Google Scholar™搜索引擎。

详情请访问 thermofisher.com/2000

含PLUS试剂的Lipofectamine LTX转染试剂



Invitrogen Lipofectamine LTX试剂和PLUS™试剂结合了快速、简单的实验方案,同时可提供高效率和高细胞活性。凭借高效、温和的DNA质粒递送、精简的实验方案和便捷的双管优化特性, Lipofectamine LTX试剂可同时兼顾效能和温和性。

它在CHO、原代成纤维细胞和上皮细胞(MEF和HMEC 细胞)中具有出色的转染效率。

详情请访问 thermofisher.com/ltx

脂质体介导的siRNA递送

Lipofectamine RNAiMAX转染试剂



Invitrogen Lipofectamine RNAiMAX转染试剂可转染广泛的细胞类型, 为siRNA介导的基因抑制实验(包括高通量应用)提供极高的转染效率。专有的RNAi特异性阳离子脂质体配方专为将siRNA和miRNA稳定递送至所有细胞类型而设计, 尤其是与Invitrogen Silencer™ Select siRNA配合使用时。简单、快速的方案可适应低siRNA浓度, 从而实现更佳的基因抑制效果和极少的非特异性效应。

详情请访问 thermofisher.com/RNAi

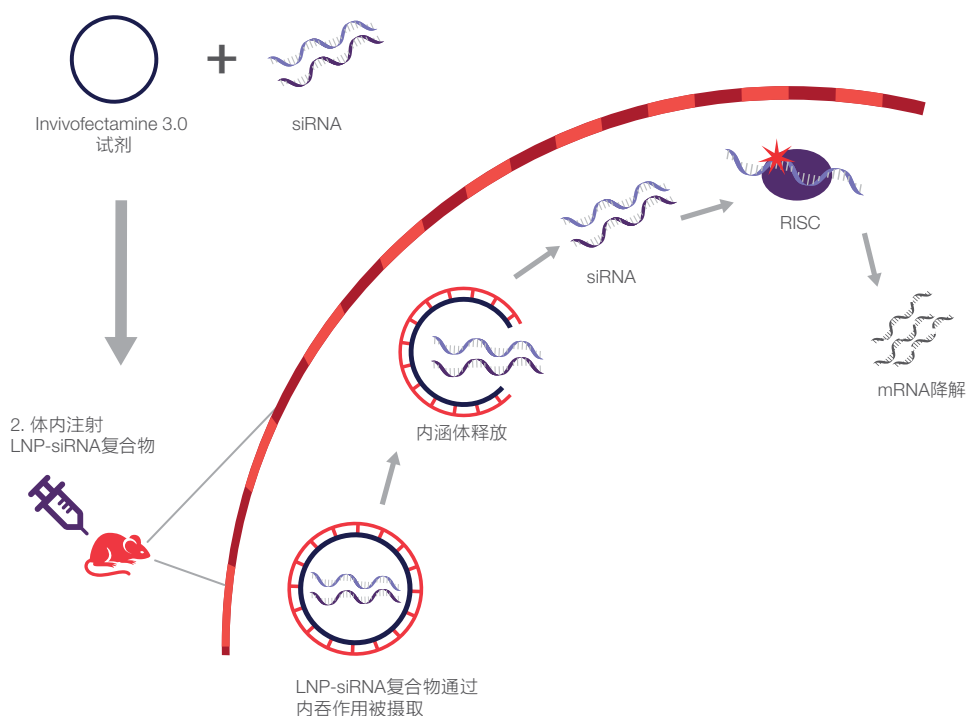
用于体内递送的Invivofectamine 3.0试剂



Invitrogen invivofectamine™ 3.0试剂是一种突破性的体内siRNA递送试剂(图7)。可大幅改善实验性能, 使用微克级的siRNA即可达到高达85%的敲低效果。用于递送的Invivofectamine 3.0试剂及siRNA双链复合物非常容易获得: 只需简单地混合, 并进行孵育及稀释即可。

- **低毒性** — 多个时间点的典型血液化学分析结果表明, 在使用Invivofectamine 3.0试剂进行转染的小鼠中检测的各种生物标志物水平与未注射该试剂的小鼠相比并没有显著差异。
- **高效敲低** — 在尾部静脉注射24小时后使用显色法对血清中的factor VII蛋白含量进行重复检测, 结果表明蛋白敲低水平与siRNA含量相关。

1. 脂质纳米颗粒(LNP)-siRNA复合物形成



详情请访问 thermofisher.com/invivofectamine

图7. 用Invivofectamine3.0试剂进行体内siRNA递送概览图。

脂质体介导的mRNA递送

Lipofectamine MessengerMAX转染试剂



Invitrogen Lipofectamine MessengerMAX 转染试剂可以在广谱细胞类型中达到极高的转染效率, 尤其是对于神经元和原代细胞, 从而改善应用结果, 且能够应用于更多生物学相关的研究。

由于mRNA翻译发生在细胞质中, 使用Lipofectamine MessengerMAX试剂进行mRNA转染能使蛋白质更快地表达。此外, mRNA递送无需进入细胞核(图8), 这就消除了基因组整合的风险, 可在缓慢分裂的细胞中实现高转染效率。

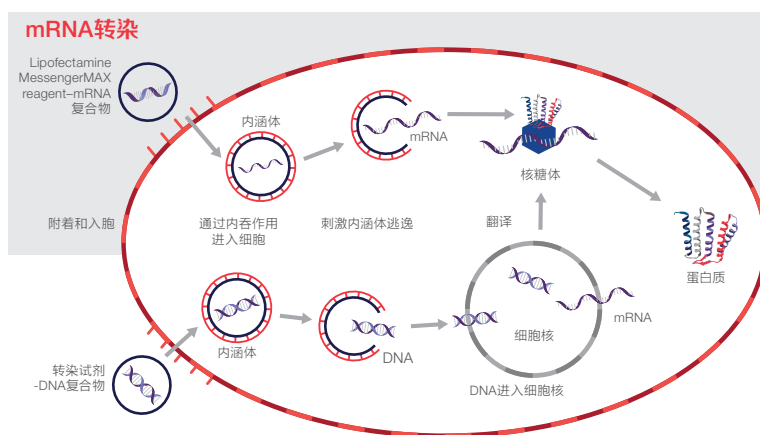


图8. mRNA转染与DNA转染对比。mRNA转染可绕过入核步骤, 有助于提高非分裂细胞中的蛋白质表达。

Lipofectamine MessengerMAX试剂设计用于转染神经元和广谱的难转染原代细胞, 可以提供更高的mRNA量。因此与其他脂质体试剂相比, 其转染效率可提高两倍以上(图9)。

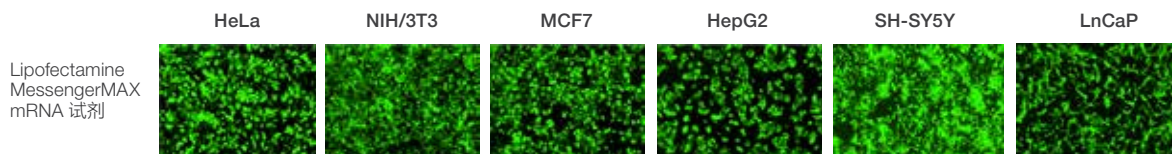


图9. Lipofectamine MessengerMAX试剂用于在96孔板中递送GFP mRNA (100 ng/孔)。转染48小时后分析GFP表达。Lipofectamine MessengerMAX试剂在所有六种细胞系中均具有高转染效率。

详情请访问
thermofisher.com/messengermax

用于CRISPR-Cas9基因组编辑的脂质体介导的核糖核蛋白递送

Lipofectamine CRISPRMAX Cas9转染试剂



Invitrogen Lipofectamine CRISPRMAX Cas9转染试剂是第一种用于核糖核蛋白 (RNP) 递送以进行CRISPR-Cas9基因组编辑的优化的脂质体纳米微粒转染试剂。它是一种高通量兼容、经济高效的电穿孔替代方案。

与Invitrogen TrueCut™ Cas9 Protein v2和Invitrogen TrueGuide™ Synthetic gRNA结合使用时, 其提供:

- **经验证的切割效率** — 在超过20种细胞类型中成功转染, 包括iPSC、mESC、N2A、CHO、A549、HCT116、HeLa、HEK293和几种其他细胞
- **低细胞毒性** — 减少启动实验所需的细胞
- **高通量兼容性** — 96孔板的理想递送解决方案
- **节约成本** — 无论是单反应成本还是初始花费成本

在新型基因组编辑中实现高转染效率

Lipofectamine CRISPRMAX转染试剂增加了成功切割和重组的可能性, 特别是当与TrueCut Cas9 Protein v2和TrueGuide Synthetic gRNA结合使用时(图10)。最终将基因修饰效率最大化。

使用TrueCut Cas9 Protein v2改善实验结果

与CRISPR质粒或Cas9 mRNA不同, 在原代细胞和干细胞中使用Cas9蛋白可提供优异的切割效率。其消除了对外源分子的转录或翻译的需求, 避免基因组整合的风险, 并且独立于细胞周期。

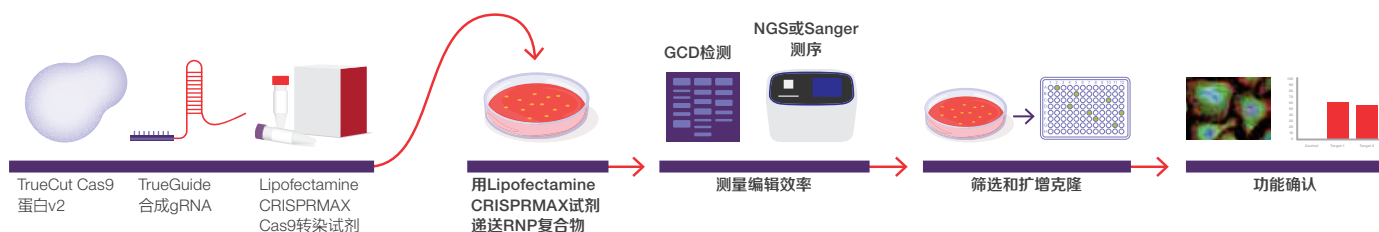


图10. 用于基因组编辑的RNP复合物组装和递送的一般工作流程。

详情请访问 thermofisher.com/crisprmax

脂质体介导的向干细胞内的递送

Lipofectamine Stem转染试剂



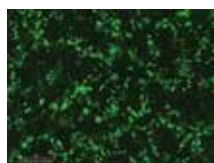
在基因编辑、基因表达和定向分化等研究应用中，实现DNA、RNA或Cas9蛋白复合物在干细胞中的高效递送向来是一个难题。因为试剂转染的结果不佳，因此涉及大的核酸或蛋白复合物片段的实验通常使用电穿孔法。

Invitrogen Lipofectamine Stem转染试剂具有将DNA、RNA和Cas9蛋白复合物递送至干细胞的通用性(图11)。其在iPSC、NSC和MSC中的转染效率是现有转染试剂的三倍。它足够灵活，可转染贴壁细胞或悬浮细胞；并且对细胞作用温和，可以提供持续的细胞增殖而不会诱导分化。

A

iPSCs

实验条件	推荐使用
递送平台	Lipofectamine Stem试剂, 1 μ L/孔
孔板形式	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	Essential 8培养基
细胞外基质	玻连蛋白 Vitronectin
细胞密度	50,000个细胞/孔

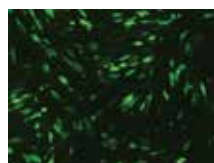


iPSC, GFP质粒
转染效率: 75%

C

MSCs

实验条件	推荐使用
递送平台	Lipofectamine Stem试剂, 1 μ L/孔
孔板形式	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	MesenPRO RS培养基
细胞外基质	CTS CELLstart底物
细胞密度	25,000个细胞/孔

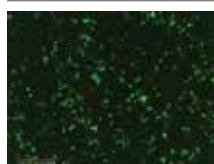


脂肪来源MSC, GFP质粒
转染效率: 47%

B

iPSC来源的NSC

实验条件	推荐使用
递送平台	Lipofectamine Stem试剂, 1 μ L/孔
孔板形式	24孔板
DNA	GFP质粒, 500 ng/孔
培养基	StemPro NSC SFM
细胞外基质	Geltrex基质
细胞密度	75,000个细胞/孔



NSC, GFP质粒
转染效率: 60%

D

ESC: 用大DNA片段进行转染



H9 ESC在StemFlex培养基中
Lipofectamine Stem试剂
11 kb EF1 α -GFP DNA质粒
转染效率: 76%



H9 ESC在mTeSR[™] 1培养基中
Lipofectamine Stem试剂
11 kb EF1 α -GFP DNA质粒
转染效率: 44%



H9 ESC在mTeSR1培养基中
其他供应商试剂
11 kb EF1 α -GFP DNA质粒
转染效率: 5%

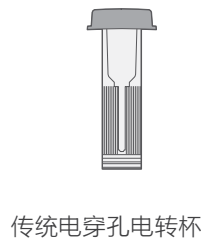
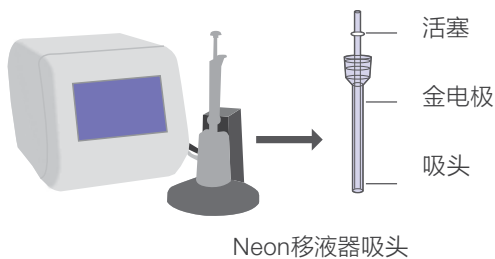
图11. Lipofectamine Stem转染试剂用于小型和大型DNA质粒的人类干细胞转染。(A) iPSC、(B) NSC 和 (C) MSC中显示小型DNA质粒可实现高效转染。(D) 使用Lipofectamine Stem试剂(上和中)用11 kb DNA质粒对H9 ESC进行转染, 其效率显著高于另一家供应商的试剂(下)。

详情请访问 thermofisher.com/lipofectaminestem

电穿孔

Invitrogen Neon 转染系统

性能卓越: Neon 电穿孔技术



通过提供最大化的电极间距离和最小化的电极表面积, Neon吸头可实现卓越的电穿孔效率和细胞活性。因此, 样本能够:

- 形成更为均匀的电场
- 最大限度减少pH值变化
- 减少离子形成
- 仅产生可忽略的热量

在难转染细胞类型中实现高转染效率

达到 **>90%** 的人类原代T细胞基因组编辑效率



灵活



可优化的电穿孔参数



递送DNA、RNA、核糖核蛋白 (RNP)、抗体等



单次反应可转染 2×10^4 - 6×10^6 个细胞

简便



1种缓冲液试剂盒兼容所有细胞类型



3个简单的Neon移液器步骤:

抽吸、电穿孔和分液

无需处理电转杯:

频繁地加盖/去盖、抽吸/分配样本并将样本从生物安全柜转移到仪器

细胞特异性方案



140+

数字持续攀升中...

经同行评审的出版物



10,900

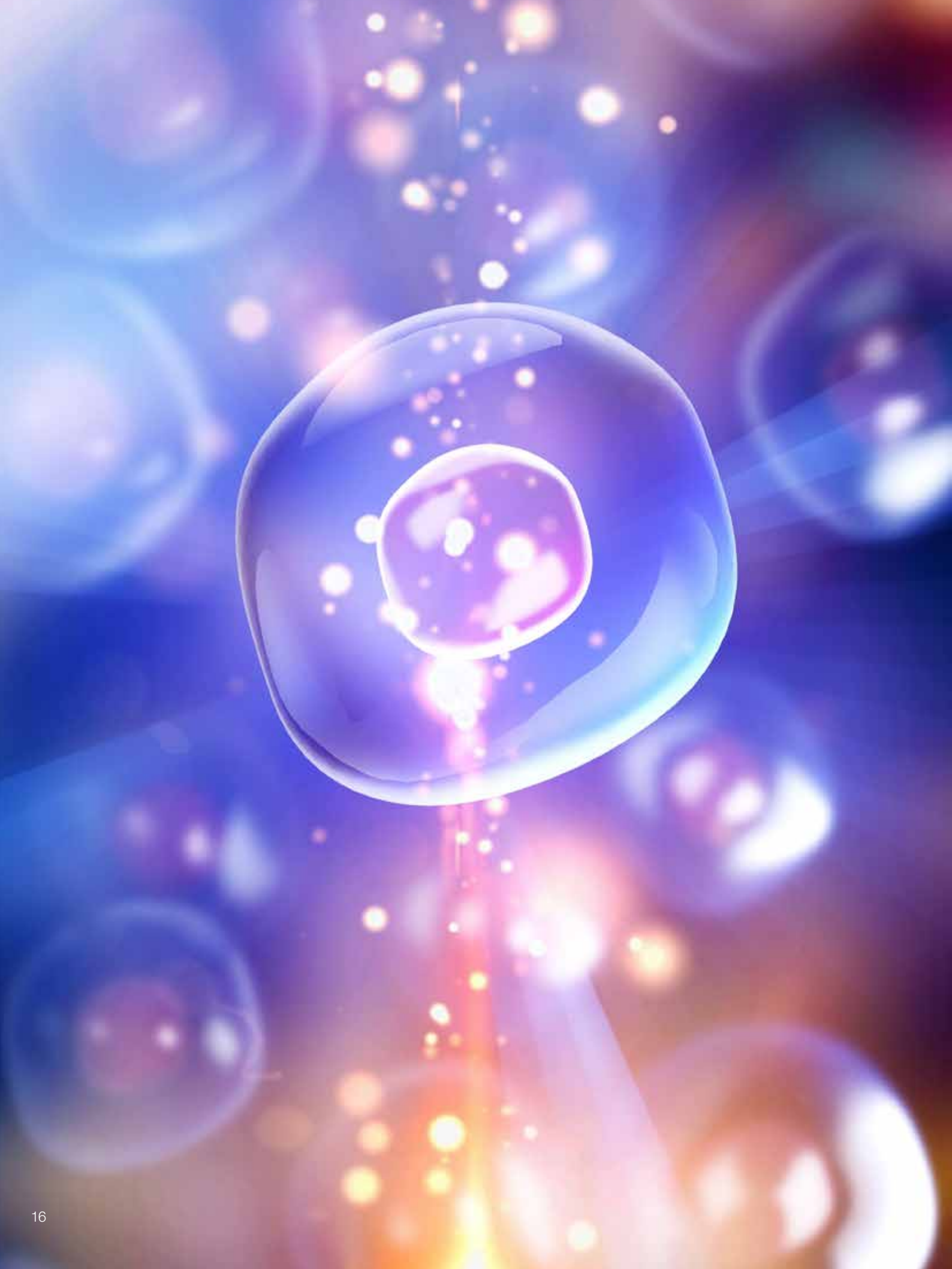
数字持续攀升中...

深受科学家信赖



*在thermofisher.com/celllinedatabase查看适合您细胞系的条件。

详情请访问 thermofisher.com/neon



产品选择指南

我们提供用于DNA、siRNA、mRNA和蛋白质递送的广泛转染产品，您可从中选择最适合您转染实验需求的试剂。使用表2为您的实验需求匹配最佳解决方案。

表2. 转染产品选择指南。

产品	Neon转染系统	Lipofectamine 3000试剂	Lipofectamine 2000试剂	Lipofectamine RNAiMAX试剂	Lipofectamine MessengerMAX试剂	Lipofectamine CRISPRMAX试剂	Lipofectamine Stem试剂	InvivoFectamine 3.0试剂
细胞类型	常规	常规	常规	常规	常规	常规		
	难转染	难转染		难转染	难转染	难转染		
	原代	原代		原代	原代	原代		
	干细胞	干细胞		干细胞	干细胞		干细胞	
			神经元	神经元	神经元			
外源分子	DNA	DNA	DNA				DNA	
	siRNA或miRNA			siRNA或miRNA			siRNA或miRNA	siRNA或miRNA
	mRNA				mRNA		mRNA	
	CRISPR-Cas9 RNP					CRISPR-Cas9 RNP	CRISPR-Cas9 RNP	
	抗体							
		共转染	共转染					
递送至	体外							体内

相关产品

Gibco™ Opti-MEM™ 1血清培养基是一种经过改良的Eagle最低必需培养基(MEM)，推荐使用该培养基稀释核酸和转染试剂。在Opti-MEM培养基中形成的转染复合物通常可以直接添加至在培养基中生长的细胞，而无需在转染后去除复合物或更换培养基。

经Nunc™ Delta表面处理的Thermo Scientific™ Nunc™细胞培养塑料耗材已通过Gibco培养基的严格测试，经证明可实现多种细胞系在其中生长的一致性，这对细胞和科学家来说都大有裨益。



如需了解Nunc细胞培养塑料耗材与Gibco培养基结合使用的更多信息，请访问

thermofisher.com/bettertogether

订购信息

产品	规格	货号
Lipofectamine 3000转染试剂	1.5 mL	L3000015
Lipofectamine 2000转染试剂	1.5 mL	11668019
含PLUS试剂的Lipofectamine LTX转染试剂	1 mL	15338100
Lipofectamine RNAiMAX转染试剂	1.5 mL	13778150
InvivoFectamine 3.0转染试剂入门套装	0.2 mL	IVF3001
Lipofectamine MessengerMAX转染试剂	1.5 mL	LMRNA015
Lipofectamine CRISPRMAX Cas9转染试剂	1.5 mL	CMAX00015
Lipofectamine Stem转染试剂	0.75 mL	STEM00008
Neon转染系统入门套装	组合套装	MPK5000S
Neon转染系统 (10 μ L试剂盒)	96 \times 2次反应	MPK1096
Neon转染系统 (100 μ L试剂盒)	96 \times 2次反应	MPK10096
TrueCut Cas9 Protein V2	500 μ g	A36499
TrueGuide修饰合成sgRNA	thermofisher.com/crisprgrna	
Opti-MEM I减血清培养基	100 mL	31985062
	500 mL	31985070
Nunc经细胞培养处理的多孔板, 6孔, 经Nunclon Delta表面处理	75个装	140675
Nunc经细胞培养处理的多孔板, 24孔, 经Nunclon Delta表面处理	75个装	142475
Nunc 96孔板, 经Nunclon Delta表面处理	50个装	167008
Nunc Edge 2.0 96孔板, 经Nunclon Delta表面处理	50个装	167425

赛默飞世尔科技

上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼
邮编 201206
电话 021-68654588*2570

生命科学产品和服务业务

上海市长宁区仙霞路99号21-22楼
邮编 200051
电话 021- 61453628 / 021-61453637

北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层
邮编 100000
电话 010-87946888

广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206 单元
邮编 510000
电话 020-82401600

成都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406 室
邮编 610041
电话 028-65545388*5300

沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109 室
邮编 110013
电话 024-31096388*3901

西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦
1006-08单元
邮编 710075
电话 029-84500588*3801

南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室
邮编 210000
电话 021-68654588*2901

武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路
生物医药园C8栋5楼
邮编 430075
电话 027-59744988*5401

昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字
楼908单元
邮编 650021
电话 0871-63118338*7001

欲了解更多信息，请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息，说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

访问thermofisher.com/transfection进一步了解适合您的转染产品



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982
信息咨询邮箱：cnbidmarketing@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC

仅供研究使用。不可应用于诊断程序。© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。除非另有说明，所有商标均为Thermo Fisher Scientific及其子公司所有。Essential 8是Fujifilm Cellular Dynamics, Inc的商标。mTeSR是Wisconsin Alumni Research Foundation的商标。Google Scholar是Google LLC的商标。