

2012 聚焦转染：首站 Invitrogen

编者按 2005 年，生物通曾重磅推出“聚焦转染”专题，详细介绍了各大公司的转染试剂，并总结了转染过程中的一些注意事项，备受好评。如今，七年过去了。转染市场风云变幻，多个新产品涌现而出，一些旧产品更弦易主。我们觉得，是时候推出更新版的转染专题啦。于是便有了这个“2012 聚焦转染”专题。

说到转染，Invitrogen 认第二，没人敢认第一。这么多年来，Invitrogen 一直保持着转染市场的领先地位，而 L2K (Lipofectamine 2000) 对于做转染的人来说也几乎是无人不晓。当然，Invitrogen 并没有躺在功劳簿上睡大觉，为顺应新的研究趋势，它在近几年推出了一系列新产品。如今，除了 L2K 这张王牌，Invitrogen 手上的好牌还不少呢。

效率与温和之间的最佳平衡——Lipofectamine® LTX

强壮的细胞系自不必说，L2K 便是很好的选择。但对于某些对转染试剂敏感的细胞系，L2K 的毒性也是无法回避的问题。于是，Invitrogen 推出了毒性较低的 Lipofectamine® LTX。这也意味着在获得高转染效率和高蛋白表达的同时，无需担心转染后细胞的活力。

当然，转染效率也是大家首要考量的因素，特别是在研究原代细胞、神经细胞和干细胞这些难对付的细胞时。当然，Invitrogen 也考虑到了。PLUS™ 试剂就是一个秘密武器，让大家在必要时候出手。Lipofectamine® LTX 与 PLUS™ 试剂配合使用，可以完成难转染的细胞和原代细胞的成功转染，包括人类脐带

动脉细胞 (HUVEC)、RAW267.3 巨噬细胞、神经元细胞及人类间充质干细胞。

转染过程也非常简单，无需去除转染复合物，也无需在转染后更换培养基。只需将质粒 DNA、Lipofectamine® LTX 及 PLUS™ 试剂加入细胞中，24 小时之后，即可分析基因表达情况。

当然，还有一点需要特别注明，Lipofectamine® LTX 试剂不能用于小分子 RNA 的转染，这一点与 L2K 可不同。因此，在选择质粒与 RNA 的共转染试剂时，还须选择 L2K。

还有一个好消息！以往，Invitrogen 的转染试剂只有 0.75 ml/1 ml 的包装。对于某些不经常做转染，或者只想试一下的客户来说，这个包装太大了，于是他们便改投了 Fugene 的怀抱。Invitrogen 当然也意识到了这个问题，不久前推出了 0.1 ml 的 Lipofectamine® LTX & PLUS 小包装，价格约为 528 元。常规的 1 ml 包装则为 4800 元。（注：因价格每年都会调整，生物通标出的价格仅供参考）

高效转染 RNA——Lipofectamine® RNAiMAX

从最初的 siRNA 到如今的 miRNA, 随着小分子 RNA 研究的持续升温, 研究人员也急需一种高效的 RNA 转染试剂。于是, Invitrogen 推出了 Lipofectamine® RNAiMAX 转染试剂。它是一款 RNAi 特异的阳离子脂质体试剂, 可以高效地将小分子 RNA 导入多种细胞类型。

Lipofectamine® RNAiMAX 转染试剂可以在 10 倍的浓度范围内获得最大的干扰效果以及极佳的细胞存活率, 这个特点使得 Lipofectamine® RNAiMAX 的转染条件极易优化, 以便在实验中使用最低的 siRNA 浓度, 从而降低细胞毒性。尽管 Lipofectamine® RNAiMAX 的说明书建议以 10nM siRNA 作为优化干扰效果的起始浓度, 但是仅用 1nM siRNA 也可以获得较好的靶基因干扰效果。不过, 这款试剂只能用于小 RNA 的转染, 不能用于共转染。如果需要共转染, 只能借助经典的 Lipo 2000。

操作流程(顺式转染): 用 Opti-MEM 分别稀释 RNA 分子和 Lipofectamine RNAiMAX, 将两者混合, 室温下孵育 10-20 分钟。加入培养细胞中, 在 37° C 孵育 24-48 小时。

Lipofectamine® RNAiMAX 的价格约为: 4315 元/0.75 ml, 7410 元/1.5 ml。最新推出的 0.1 ml 小包装价格为 738 元。虽然目录价看上去贵一些, 但实际用量较省 (24 孔板的每孔建议用量为 1 μ l), 因此综合来看性价比较高。

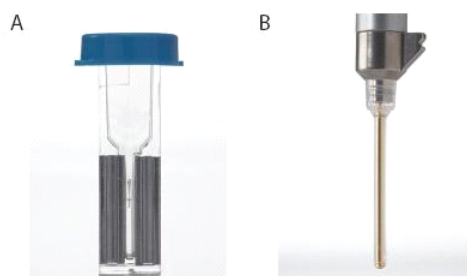
如何对付百毒不侵的细胞——Neon 转染系统

就普通的细胞系而言, 传统的转染试剂大多都能实现高效的转染。然而, 有些细胞“百毒不侵”, 比如干细胞或原代细胞, 你还真拿它没办法。无论怎么优化, 转染试剂就是不灵。这时, 不妨换个思路, 试试电穿孔吧。

Life Technologies 公司在 2009 年推出了一种新一代的电穿孔仪——Neon®转染系统。它可将核酸 (包括质粒 DNA 和 siRNA) 高效导入几乎任何一种动物细胞内, 包括难以转染的原代细胞、干细胞和造血系统来源的细胞, 同时保持高的细胞活性。

新颖的转染室

大家可能注意到, Neon 系统中没有带传统的电转杯。确实, 这就是它的独特之处。Neon 系统用一个特殊的移液器吸头取代了传统的电转杯。移液器吸头内使用 24K 镀金电极, 可形成更为均匀的电场, 同时最大限度地减少温度升高和 pH 值变化幅度, 在确保细胞高效转染的同时, 也更为温和, 保证细胞存活率更高。



装有镀金电极的 Neon 移液器吸头 (右) 与普通电转杯 (左) 的比较。研究表明, 与普通电转杯相比, 狭长形移

液器吸头可产生更为均匀的电场，从而提高细胞存活率和转染效率。

高效转染

实践证明，Neon 系统能够对多种难以转染的细胞进行高效转染，包括原代星形胶质细胞、原代树突状细胞、Jurkat、小鼠胚胎干细胞等。多种细胞类型可获得超过 75% 的转染效率。觉得摸索电转条件无从下手？别担心，在转染前，你只需登录 Neon 的网页 (www.invitrogen.com/neon)，就能找到细胞特异的实验条件，无需反复优化，轻轻松松提高转染效率和细胞活性。另外 Life Tech 还有一个专门供 Neon 客户分享他们的实验结果及经验的网站 Neon Protocol Exchange (<http://www.protocolexchange.com/index.jspa>)，在这里有很多成功案例，供你参考。你也可以与大家分享你的成功案例。

设计灵活

有时，细胞很珍贵，若每次转染所需的细胞量较少，那么你就能开展更多更复杂的实验。Neon 系统带有两种吸头：10 μ l 和 100 μ l，让您可根据实验要求灵活选择，而不像传统电穿孔仪那样只能转染固定量的细胞。使用 Neon 系统，每次最少可转染 2×10^4 个细胞，最多可转染 2×10^7 个细胞。当然，这并非绝对。若你的细胞更少或更多，也可

一试，据 Life Tech 的专家介绍，有一位客户曾成功转染了 5000 个原代毛囊细胞。

使用简单

由于省掉了电转杯，转染过程也更为简化：只需将细胞和核酸吸入 Neon 移液器吸头中，再插入到移液器吸头架上，并按“Start”即可。转染过后，直接将细胞加入培养容器中。既没有繁琐的移液，也不需要清洗电转杯。而且，通用的试剂盒适用于所有细胞类型，不用购买多个试剂盒，也无需鉴定最佳缓冲液。当然，一次性使用的 24K 金电极吸头成本不低。因多次使用会导致金包被变薄，改变吸头的电导率，所以每个吸头最多只能使用两次。

一直是经典——Lipofectamine® 2000

之前的专题曾详细介绍了 L2K 这个王牌产品，这里不再赘述，感兴趣的同学请看：<http://www.ebiotrade.com/newsf/2008-3/2005727121752.htm>。

如何选择转染试剂？

如此多的产品可供选择，当然是好事，不过估计也有不少同学会头疼，不知该选哪个好。生物通特地编译了 Life Technologies 的转染产品选择表，以飨读者。

转染	转染试剂	表达	应用	特点
质粒	Lipofectamine® LTX 及 PLUS™ 试剂	基因/蛋白 shRNA miRNA	蛋白表达 RNAi	高转染效率 高蛋白表达 对细胞非常温和
siRNA	Lipofectamine® RNAiMAX		RNAi	适用于合成的RNA分子 高效 knockdown
质粒 & siRNA	Lipofectamine® 2000	基因 shRNA miRNA	共转染 高通量	至高转染效率 高蛋白表达 适合强壮的细胞
质粒、siRNA & 蛋白	Neon 转染系统	基因/蛋白 shRNA miRNA	蛋白表达 RNAi	高转染效率 & 存活率 高效导入原代 & 干细胞
质粒	FreeStyle™ MAX	蛋白	生物生产	大规模蛋白生产

欢迎索取 Invitrogen 转染试剂的更多资料！

至于 Invitrogen 其他的转染试剂(如昆虫细胞转染试剂 **Cellfectin**) 以及阳离子转染试剂使用过程中的一些注意事项，大家可参考之前的专题：
<http://www.ebiotrade.com/newsf/2008-3/2005727121752.htm>。(生物通 余亮)