

细胞转染技术 PPT

一：转染的简介

二：转染的分类

三：转染的方法

一、转染的简介

1. 基因转染: 将具生物功能的核酸转移或运送到细胞内并使核酸在细胞内维持其生物功能。

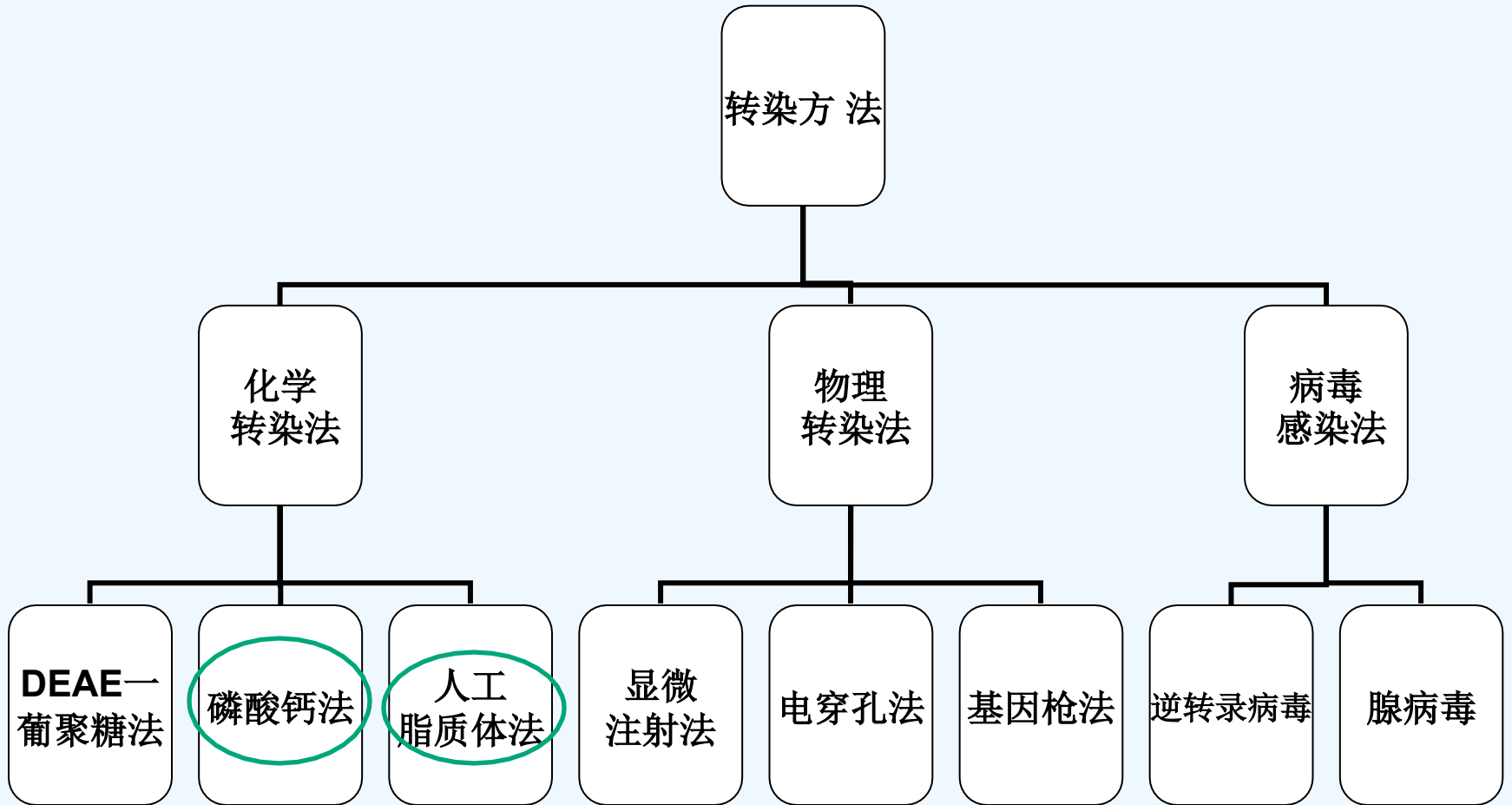
转染的DNA: cDNA, 基因组DNA, 有目的基因的质粒DNA。

2. 基因转染技术已广泛应用于基因组功能研究和基因治疗研究。

不表达  表达; 表达  不表达

二、转染的分类

基因转染真核细胞的方法



DEAE-葡聚糖法

是最早应用哺乳动物细胞转染的试剂之一。DEAE-葡聚糖是阳离子多聚体,它与带负电的核酸结合后接近细胞膜而被摄取。DEAE-葡聚糖转染已成功地应用于瞬时转染,但用于稳定转染却不可靠。

大家学习辛苦了，还是要坚持

继续保持安静

磷酸钙共沉淀转染法

由于试剂易得、价格便宜而被广泛用于瞬时转染和稳定转染的研究。原理是，先将外源性DNA和氯化钙混合，然后加入到含磷酸离子的缓冲液，在特定PH下（通常PH7.1），慢慢形成DNA-磷酸钙沉淀，后把含有沉淀的混悬液加到培养的细胞中，培养一段时间后，通过胞膜的内吞作用摄入DNA。

脂质体介导法（目前应用最广泛）

原理：阳离子脂质体试剂与DNA混合后，形成一种稳定的脂质双层复合物，DNA被包在脂质体中间，这种脂质双层复合物可直接加到培养的细胞中，脂质体粘附到细胞表面并与细胞膜融合，DNA被释放到胞浆中。

【主要应用】：瞬时转染 稳定转染。

【特点】：使用方法简单，可携带大片段DNA，通用于各种类型的裸露DNA或RNA，能转染各种类型的细胞，没有免疫原性。虽在体外基因转染中有很高的效率，但在体内，能被血清清除，并在肺组织内累积，诱发强烈的抗炎反应，导致高水平的毒性，很大程度上应用受限制。

利用脂质体转染法最重要的就是防止其毒性，因此脂质体与质粒的比例，细胞密度以及转染的时间长短和培养基中血清的含量都是影响转染效率的重要问题，通过实验摸索的合适转染条件对于效率的提高有巨大的作用。

物理方法(电穿孔、显微注射及基因枪)

(1) 电穿孔法

利用高压电脉冲对细胞膜的干扰，使其形成利于核酸进入的微孔。电穿孔技术可用于瞬时转染和稳定转染，可方便地用于悬浮细胞，重现性好，但需要较多的细胞。影响转染效率的主要因素是脉冲强度和持续时间。必须找到能够使核酸有效释放而又不杀死细胞的最佳平衡点。

(2) 显微注射法

该法虽然费力，但却是非常有效的将核酸导入细胞或细胞核的方法。这种方法常用来制备转基因动物，但不适用于需要大量转染细胞的研究。

(3) 基因枪法

该法依靠携带了核酸的高速粒子而将核酸导入细胞内，这种方法适用于培养的细胞和在体的细胞。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/438076054026006075>