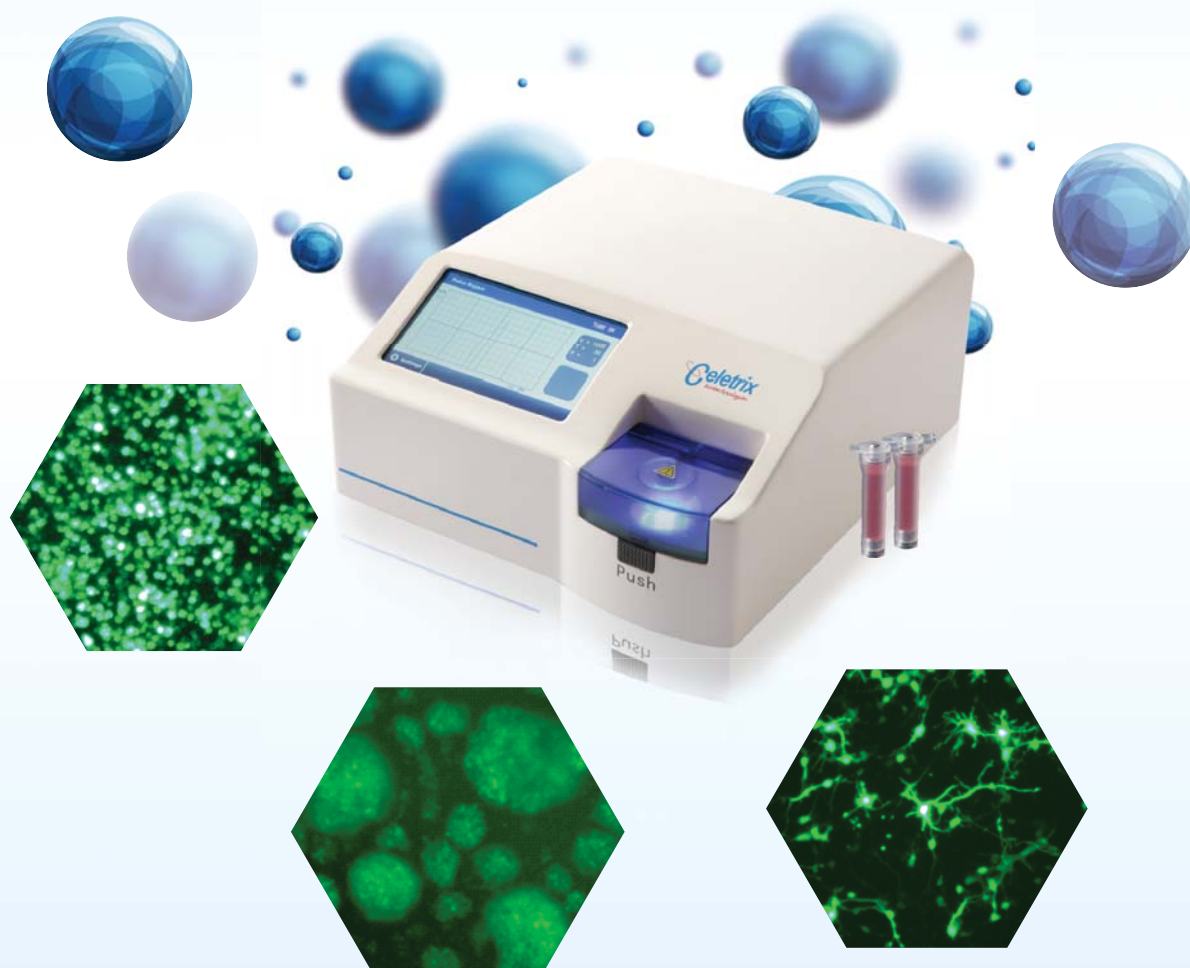




全新高效细胞电转仪

新增电融合功能与大体积电转



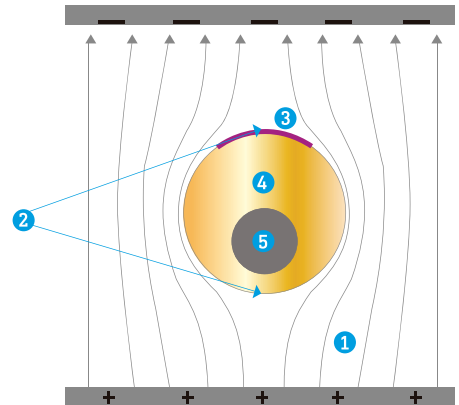
本公司技术已获得美国、中国、日本专利

www.celetrix.com

电转技术原理

细胞电转染(电转),也叫细胞电穿孔(electroporation),是把外源大分子物质DNA、RNA、siRNA、蛋白质等以及一些小分子导入细胞膜内部的重要方法。

在瞬间强大电场的作用下,溶液中细胞的细胞膜具有了一定的通透性,带电的外源物质以类似电泳的方式进入细胞膜。如右图,电转的瞬间由于细胞膜近似绝缘体,细胞附近电转液中电流扭曲①,细胞两端电压基本都落在两端细胞膜上②,只有一个细胞端面电转有效③。细胞质内分到电压很小,DNA电转进入细胞膜后马上停止,后续靠细胞本身机制扩散④。细胞核⑤两端电压及其微小,微小的电压又落在核膜上,核内部完全没有电压,电转没有基因毒性。

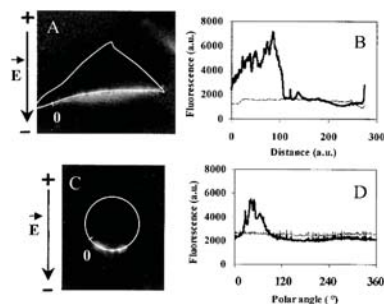


细胞核电转是个假概念

根据电转的基本原理,细胞膜近似绝缘体,DNA电转进入细胞膜后马上停止,后续靠细胞本身机制扩散。细胞核两端电压及其微小,核内部完全没有电压。所以电转本身是只能将质粒送进细胞膜内,至于后面的事情,得靠他们自己啦!

不同的电转技术,效率和存活率不同,但是质粒进入后表达的时间是一样的,比如Celetrix电转后30分钟就可以看到GFP荧光表达。号称直接转染细胞核的技术,并不比别的表达快,说明这个概念违反物理原理是假的。

其实这个道理,很早之前在文献上就已经有很详细的验证了,电转后DNA仅在细胞膜附近(Golzio et al.),细胞本身可以让DNA进入细胞核。



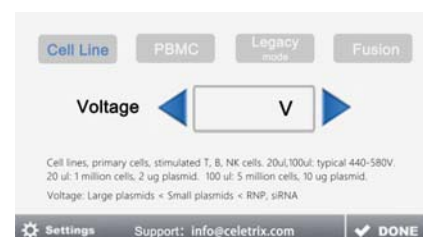
Direct visualization at the single-cell level of electrically mediated gene delivery Muriel Golzio, Justin Teissie, and Marie-Pierre Rols
PNAS February 5, 2002. 99(3) 1292-1297;
<https://doi.org/10.1073/pnas.022646499>

Celetrix独特模式 简化电转参数

Celetrix独特地把细胞电转分为两个模式:细胞系模式和PBMC模式。

绝大部分细胞系,贴壁生长的原代细胞,以及血液干细胞、刺激生长的T细胞、B细胞、NK细胞等直径较大,电转参数也较为接近,在细胞系模式下微调电压就可以电转。(见右图)

PBMC(外周血单个核细胞)以及未刺激的T细胞,B细胞和NK细胞等直径较小需要电压较高,在PBMC模式下进行电压微调即可。两种模式下电转液是通用的,用户使用非常方便。



产品介绍

细胞电转仪 (LE+, EX+)

- 新增细胞系模式和PBMC模式, 使用更便捷;
- 新模式优化大质粒电转的细胞存活率和转染效率;
- 功率强大, 单次高效电转可达1ml;
- 可选配 细胞融合 程序, 单次可处理一只小鼠脾脏细胞进行高效融合。



SLT-10ml大体积细胞电转仪

- 可适配200ul、1ml、10ml电击管;
- 单次10ml电击管可转染 2×10^9 CHO细胞或者293细胞
- 内置细胞转染程序, 只需微调;
- 可选配 细胞融合 程序, 单次可处理一只小鼠脾脏细胞进行高效融合



细胞电转染试剂盒

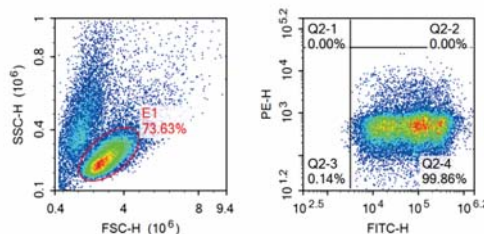
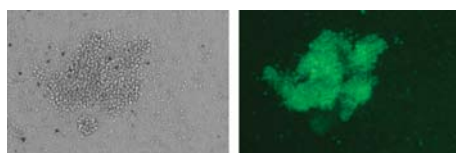
- 一种试剂盒可电转所有细胞, 不分细胞种类;
- 全新加压型电击管, 承受电转产生气体之压力, 在电转瞬间压缩气泡, 保证电场均匀度;
- 试剂盒包含电击管和电转液;
- 简单更换不同适配器就可以适应不同容积电击管。

THP-1 电转辅助试剂盒

- THP-1, U937等细胞电转质粒后可以部分存活继续生长, 经测试可以进行瞬转、稳转以及使用Cas9质粒进行基因编辑。
- 本试剂盒只用于电转质粒, RNP、mRNA电转无需本试剂盒。

特殊细胞稳转株构建服务

Celetrix细胞稳转株构建服务采用电转染的方法引入所需的DNA修饰。特别针对巨噬细胞系(像THP1, U937)之类的稳转细胞株构建。生产周期短, 筛选效率一般可以达到真正100%。标准药筛过后, 多克隆细胞群经传代、验证并交付您使用。



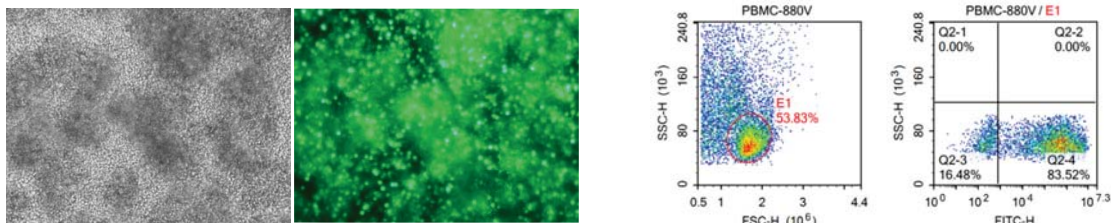
THP1细胞Cas9-GFP-Puro大质粒筛选16天GFP比率100%

细胞免疫治疗新时代

传统的转染方法对于T细胞非常困难，特别是对于质粒的转染。

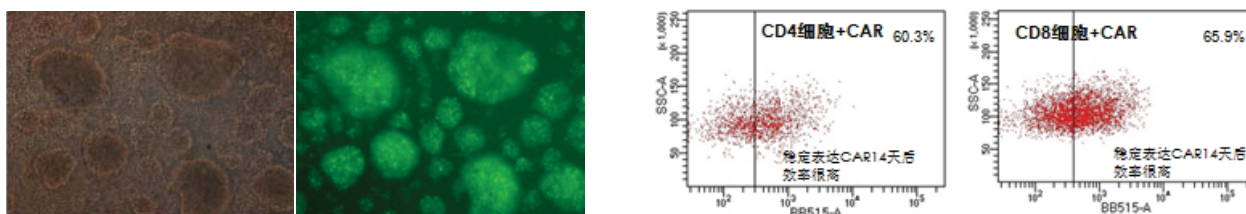
Celetrix新一代电转技术可以高效转染从新鲜PBMC到刺激培养阶段的T细胞。与其他电转技术相比，Celetrix电转技术具有最高的效率。同时，我们的技术也具有最高的细胞存活率，并且细胞在电转后能够与未电转细胞一样正常分裂。使用Celetrix电转仪使得CAR-T，TCR-T制备、CRISPR介导的基因编辑等变得容易。

PBMC使用普通GFP质粒电转结果与流式分析图



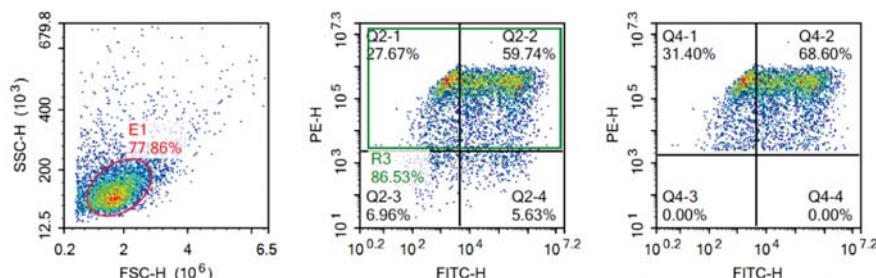
PBMC使用普通GFP质粒电转24h后效率80%

PBMC使用SB转座子系统表达CAR-T2A-GFP结果



PBMC电转转座子后CAR表达效率为65.9%，并且细胞状态和未电转的一样稳定快速聚集生长。

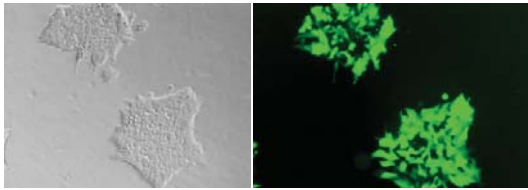
刺激扩增7天NK细胞电转第7天(总培养14天)CD56-PE染色分析



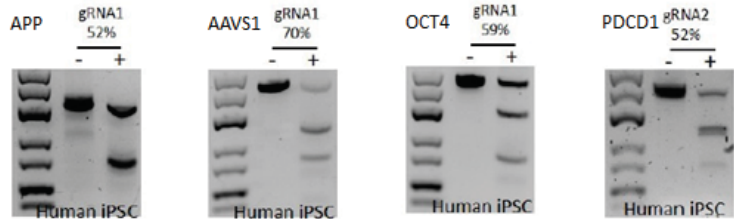
电转GFP转座子两个质粒7天后，细胞用CD56-PE染色分析NK细胞比例大约是86%，其中GFP阳性率68%

细胞电转应用

电转在基因编辑领域的应用

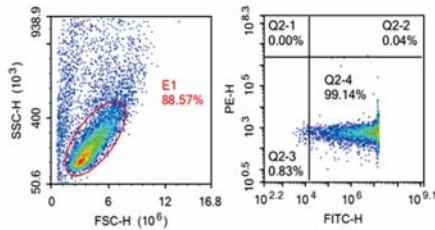


iPSC细胞



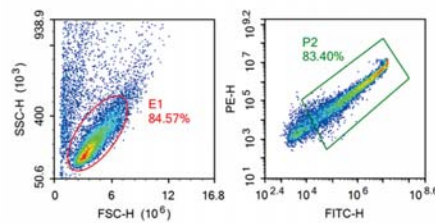
利用Celetrix的电转技术电转Cas9蛋白和gRNA (+) 或者 Cas9蛋白, 通过T7E1核酸内切酶检测基因编辑效率, 在APP, AAVS1, OCT4和PDCD1四个基因位点的编辑效率均超过50%, 其中AAVS1基因位点编辑效率能够达到70%。

电转在抗体领域的应用



CHO细胞电转6kb小质粒瞬转效率> 99%
普通质粒瞬转表达抗体
转座子高效整合系统表达抗体

质粒高效瞬转, 快速表达蛋白



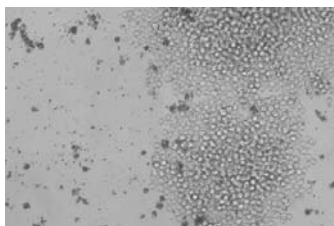
CHO细胞11kb较大抗体模拟质粒瞬转效率>80%
GFP, mCherry代替HC, LC
含有GS筛选标记可做稳转细胞株

大质粒电转效率高, 加快稳转进度

电融合杂交瘤技术

小鼠杂交瘤

Celetrix电转仪可选配细胞融合功能,
高效、迅速, 1只小鼠脾脏可得到 10^3 到 10^4 克隆

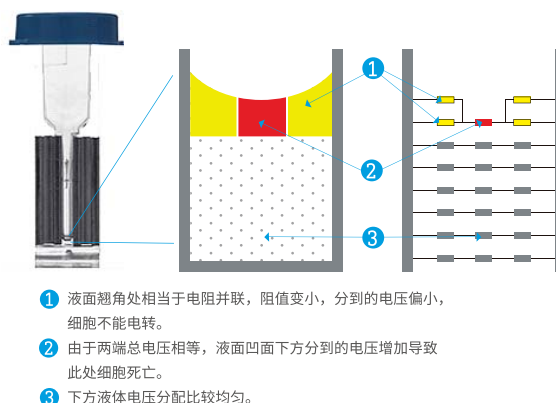


细胞电转仪EX+, SLT可选配 细胞融合 功能. 单次可处理一只小鼠脾脏细胞进行高效融合

与电极杯说再见

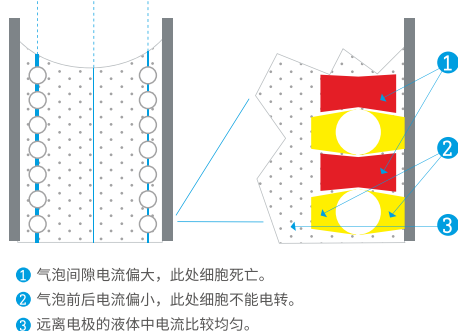
电极杯内液面效应导致电压分配不均

- 电极杯内由于液体表面张力的作用，液面不平，导致对液体内部电压分配的均匀度有很大的影响。
- 电压分配可以用一个简化的等效电路来说明。电极杯内液体可以分割成相同的部分，每个部分电阻相同，多路先串联再并联，每一路两端总电压相等。
- 液面翘角处，相当于电阻先并联后再串联入电路，此处阻值变小，在电路中分压变小（如右图①），细胞电压不够不能电转。由于两端总电压相同，多出来的电压分到液体凹面下方的区间，导致此处电压过高（如右图②），细胞死亡。



电极杯内电解气泡导致电流分配不均

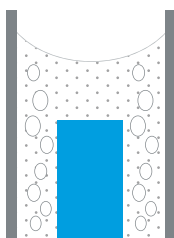
任意截面总电流相同



- 电极杯中样品与电极接触面积大，电化学反应产生毒性物质多，并且产生非常多的气泡。气泡对电转的实际影响非常大。
- 由于气泡是绝缘体，电流只能从气泡之间的间隙溶液流过，这样导致气泡间隙的溶液中电流富集升高，处于其中的细胞因承受太多的电压而死亡。
- 气泡作为一个球形绝缘体，可以扭曲周围电流的走向（类似于第2页中细胞外电流图）。气泡侧面（气泡间隙溶液）电流变大，而气泡的前后两方都是低电流区，处于此区的细胞得到电压不够，不能电转。

电极杯内较优电转区域很小

电极杯内的溶液上方受到液面效应影响，电场不均匀。靠近两个电极1-2mm的区域由于气泡的作用，电场也不均匀。电极杯内电场比较均匀的较优电转区域很小（右图蓝色部分），而1mm或者2mm的电极杯甚至可能没有较优电转区域。



电击管不受液面和气泡影响

- 液体样品密封呈规整圆柱形，没有液面效应影响电场均匀度。
- 电极与液体接触面积小，气泡少又而且被压缩，不影响电流分配。
- 电击管内部电场均匀，全部都是有效电转区域。



CELETRIX™ 电击管的时代

与毛细管的对比优势

毛细管的管壁是绝缘体，当细胞接近管壁时，细胞侧面靠毛细管壁一侧的溶液截面积变小，导致此处局部电阻增加而分配到的电压更高，并且细胞表面的有效电转面积有一定的增加，所以可以帮助电转。毛细现象增加细胞电转有效表面的作用类似于提高细胞密度时有效电转表面的增加。

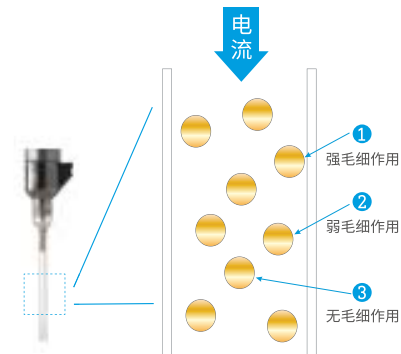
毛细管的缺点是毛细作用只在接近管壁的地方有效（如右图①），随管壁距离增加而迅速减小（如右图②），离开管壁两个细胞直径的距离后毛细作用基本消失（如右图③）。管壁附近的细胞需要总体电压低一点，而远离管壁的细胞需要总体电压高一点，而总体电压只有一个，不可能同时顾及到近壁细胞和远壁细胞。虽然有一部分细胞可以得到帮助，毛细作用的不均衡现象也会降低总体电转效率。

毛细现象的原理：

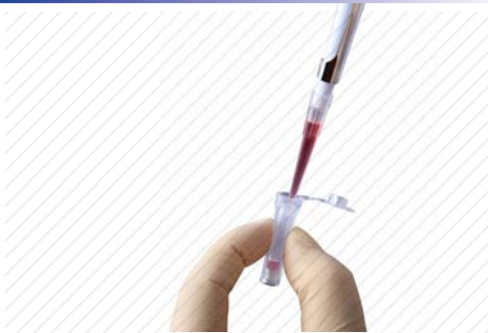
部分细胞靠近管壁电转更容易。

毛细现象的缺点：

- 1) 细胞间不均衡，差异大不利于总体效率。
- 2) 毛细管没有加压功能，电转气泡影响较大，由于直径小，产生高压电弧的概率也比较大。
- 3) 毛细管直径小，体积小，处理细胞量少，需要处理大量细胞时特别不方便也不经济。
- 4) 毛细管电转所配套的脉冲电源功率小，没有扩展性。



加压电击管的优点



1. 电场均匀度高，电转过程中产生的气泡被压缩，气泡对电流的干扰作用被抑制。
2. 加压电击管直径较大，毛细现象基本没有影响，不会增加不均衡性。
3. 加压电击管中通过调节细胞密度，同样可以获得细胞有效电转表面增加的效果，而且此效果更均衡。
4. 加压电击管容积选择范围大，用户可以根据需要选择从小到不同容积的电击管，处理大量细胞时更为经济方便。

性能综合对比

各公司 电转产品 性能对比	 Celetrix™ 细胞电击管	 电极杯	 毛细管
细胞样品容积	20ul~1000ul	100ul-800ul 或 20ul-100ul	10ul~100ul
气泡压缩	有	无	无
电场均匀度	高	低	较高
细胞毒性	低	高	低
精度	高	低	较高
公司	Celetrix	Bio-Rad, BTX, Amaza等	Life Technologies

► 产品型号



简约款细胞电转仪 SP100

- 1、可适配20ul、100ul电击管；
- 2、固定脉冲时间20ms；
- 3、电脉冲电压300V-1000V。



升级款细胞电转仪 LE+

- 1、可适配20ul、100ul、200ul电击管；
- 2、新增细胞系模式和PBMC模式，使用更便捷；
- 3、新模式优化大质粒电转的细胞存活率和转染效率。



升级款细胞电转仪 EX+

- 1、可适配20ul、100ul、200ul、600ul、1000ul电击管；
- 2、新增细胞系模式和PBMC模式，使用更便捷；
- 3、新模式优化大质粒电转的细胞存活率和转染效率；
- 4、可选配 细胞融合 程序，单次可处理一只小鼠脾脏细胞进行高效融合。



SLT 大体积高效细胞电转仪

- 1、可适配200ul、1ml、10ml电击管；
- 2、单次10ml电击管可转染 2×10^9 CHO或293细胞；
- 3、内置细胞转染程序，只需微调；
- 4、可选配 细胞融合 程序，单次可处理一只小鼠脾脏细胞进行高效融合。



UHV Transformer 细菌、酵母电转仪

- 1、可适配20ul、100ul、200ul电击管；
- 2、可调节脉冲时间；
- 3、酵母电转最多可做200ul；
- 4、不会产生电弧，不需要其他仪器的灭弧检测。



Celetrix LLC

11100 Endeavor Ct 123
Manassas, VA 20109
Phone: 1-646-801-1881
Email: info@celetrix.com
Web: www.celetrix.com
Ver. 2021.06

中国服务中心：
台州赛瑞崔克生物技术有限公司
地址：浙江省台州市开发大道东段188号
电话：0576-89815952
手机：15921891032