

破解免疫细胞转染难题!

GenomONE[®]

仙台病毒包膜转染与细胞融合试剂系列

体外 Cas9 蛋白与向导 RNA 转染

GenomONE[®]-GE

体外 siRNA/miRNA 转染

GenomONE[®]-Si

体外 质粒 DNA 转染

GenomONE[®]-GX

体内 质粒 DNA、siRNA/miRNA、蛋白转染

GenomONE[®]-Neo (FD)

细胞融合试剂盒 (制备杂交瘤、核移植)

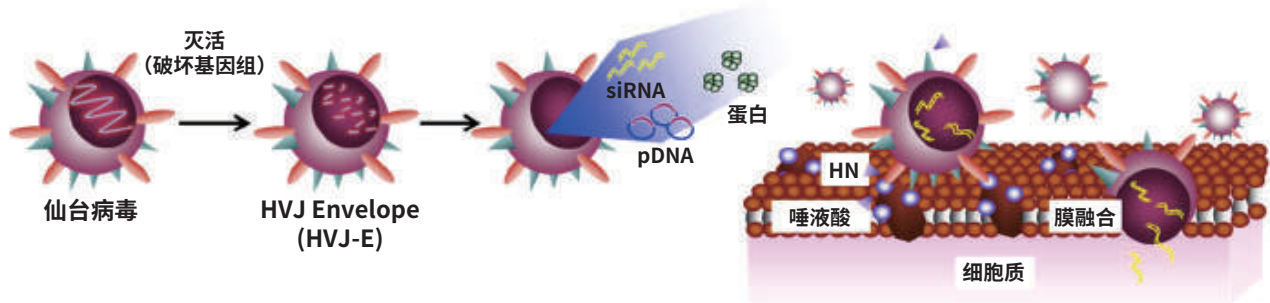
GenomONE[®]-CF

GenomONE® 系列 (HVJ-E) 是什么?

GenomONE® 系列利用了仙台病毒包膜 (Hemagglutinating virus of Japan Envelope; HVJ-E)，通过使仙台病毒RNA基因组失活，以获得无增殖性和无感染性的囊泡HVJ-E，可在生物安全等级1 (BSL1) 的实验室中使用。

转染系列：将质粒DNA、siRNA/miRNA、蛋白等包装到HVJ-E中，与靶细胞接触后，包膜表面的HN蛋白便与靶细胞膜上的唾液酸结合，F蛋白通过介导膜融合，将内含分子导入细胞质。

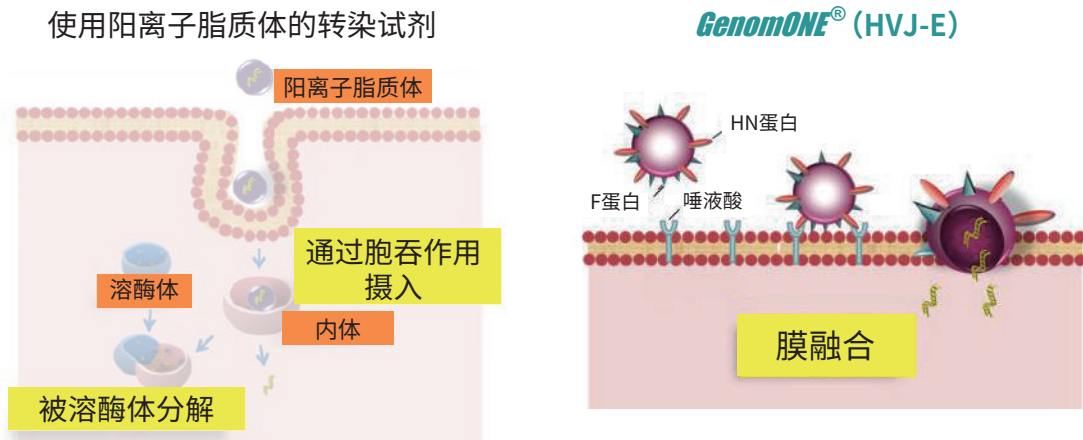
细胞融合：细胞融合试剂盒 (GenomONE® -CF) 可作为细胞融合剂使用。



GenomONE® 系列的特点

传统的转染试剂使用阳离子脂质体，通过胞吞作用摄入细胞内，但大部分会被溶酶体降解。

而HVJ-E则是通过膜融合将目标分子 (DNA、RNA、蛋白) 导入细胞内，可回避溶酶体的分解路径，即使是导入效率低的免疫细胞也可以高效转染。



安全性检验

GenomONE® 系列中使用的HVJ-E通过以下测试确认其无增殖性与感染性。

① 细胞增殖性测试 (荧光焦点形成单位检测)【每批必检】

处理 LLC-MK2 细胞, 1~2 天后使用抗 HVJ 融合 F 蛋白抗体的荧光抗体法检测的病毒增殖性。确认未能检测出病毒蛋白。

② 受精卵增殖性测试 (血凝单位检测)【每批必检】

处理受精卵, 以 HVJ 表面 HN 蛋白所带有的红细胞凝集活性作为指标, 3 天后检测病毒增殖性。确认未发现病毒增殖。

③ 小鼠感染性检测

将鼻滴给药小鼠与未给药小鼠同笼饲养 6 周后, 通过检测血清中的抗 HVJ 抗体滴度来检测个体之间的感染性。结果显示, 未给药小鼠的抗体滴度没有增高, 显示了 HVJ-E 为非感染性。

④ 动物个体基因导入实验

在对小鼠、大鼠等实验动物的各种给药实验 (肺、气管、肝脏以及静脉等) 中, 完全没有病毒感染或疑似感染的病例出现。

■ 特点

- 难以转染的免疫细胞亦可进行基因编辑
- 操作简便，只需混合和离心，即可短时间制备导入载体
- 配合供体DNA可实现基因敲入

■ 试剂盒构成与使用量

产品编号	试剂盒组成				可使用次数 (Wells)			
	HVJ-E	Reagent F	Reagent G	Buffer	6 wells	24 wells	48 wells	96 wells
384-15261	1支	1支	1支	1支	16	65	130	325
380-15263	4支	1支	1支	1支	65	260	520	1,300
388-15264	16支	4支	4支	2支	260	1,040	2,080	5,200

■ 使用方法

① 在Buffer中悬浮HVJ-E，并将其转移至离心管中；

【关键】 请通过吹打充分悬浮。悬浮液可以在4°C保存2周，-80°C保存3个月

② 添加Cas9蛋白溶液，通过吹打或轻敲充分混合；

【关键】 HVJ-E升温会降低活性，请在冰上操作

③ 添加Reagent F，通过吹打或轻敲充分混合；

④ 离心（10,000g，4°C，5 min）后，去上清液；

【关键】 请尽量去除全部上清液。虽然可能会出现基因组编辑效率低的情况，但本步骤可省略

⑤ 在buffer中重悬；

【关键】 通过吹打充分重悬至沉淀均匀浑浊

⑥ 添加gRNA溶液，通过移液或轻敲充分混合；

【关键】 请在混合后5 min以内开始下一个步骤

⑦ 添加Reagent G（带正电的肽），通过吹打或轻敲充分混合；

【关键】 请在混合后5 min内加入细胞

⑧ 将细胞加入到在制备好的载体混合物中。



【参考】不同培养容器的试剂用量(编号对应上述步骤的①~⑧)

培养容器	培养液量	① HVJ-E	② Cas9	③ Reagent F	⑤ Buffer	⑥ gRNA	⑦ Reagent G	⑧添加量
6 cm dish	5 mL	40 μL	12.5 μL	16 μL	40 μL	12.5 μL	10 μL	62.5 μL(1 dish)
6-well plate	2 mL	16 μL	5 μL	6.4 μL	16 μL	5 μL	4 μL	25 μL(1 well)
24-well plate	0.5 mL	16 μL	5 μL	6.4 μL	16 μL	5 μL	4 μL	6.25 μL(4 wells)
96-well plate	0.1 mL	16 μL	5 μL	6.4 μL	16 μL	5 μL	4 μL	1.25 μL(20 wells)

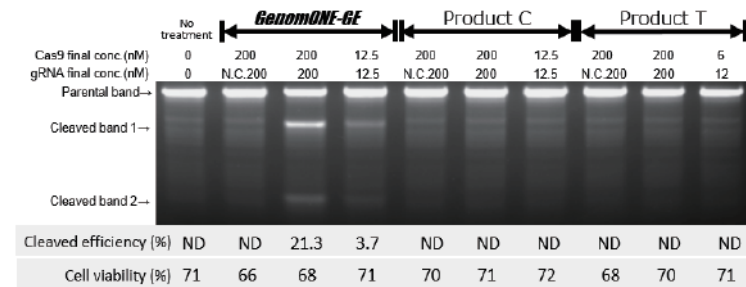
【关键】

Cas9 蛋白溶液浓度：20 μM (5-62 μM)；gRNA 溶液浓度：20 μM (5-50 μM) [推荐初始摩尔比为 1:1]

如基因组编辑效率偏低，建议提高 Cas9 蛋白以及 gRNA 的浓度。

应用数据

向小鼠原代T细胞导入Cas9蛋白以及RNA



Cleaved efficiency (%) = sum of cleaved band intensities/(sum of the cleaved and parental band intensities) x100

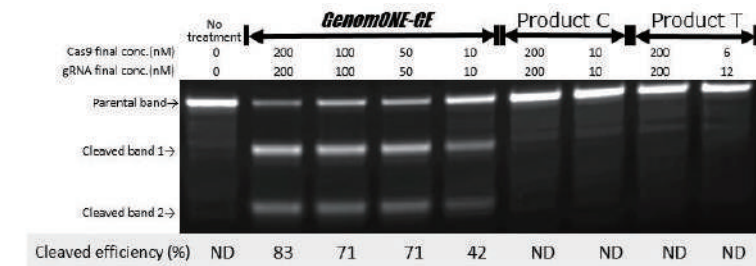
使用从BALB/c小鼠中提取的脾细胞用PMA/ionomycin刺激T细胞一天后，过筛分离。

分别使用GenomONE®-GE、其他公司产品C、其他公司产品T导入Cas9蛋白以及Cyclophilin B靶向的gRNA。

2天后，使用T7 Endonuclease I 检测检验基因组编辑效率。

GenomONE®-GE获得比其他公司试剂更高的基因组编辑效率。

向U-937细胞导入Cas9蛋白以及gRNA



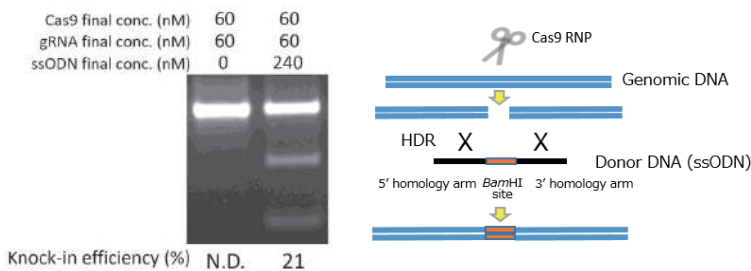
Cleaved efficiency (%) = sum of cleaved band intensities/(sum of the cleaved and parental band intensities) x100

分别使用GenomONE®-GE、其他公司产品C、其他公司产品T将Cas9蛋白以及Cyclophilin B靶向gRNA导入转染困难的免疫细胞株U-937细胞（人组织细胞淋巴瘤细胞）中。

2天之后，使用T7 Endonuclease I 检测其基因组编辑效率。

GenomONE®-GE获得比其他公司试剂更高的基因组编辑效率。

Cas9蛋白、gRNA、供体DNA的导入（敲入）



使用 GenomONE®-GE 将 Cas9 蛋白、gRNA、供体DNA(ssODN)导入 HeLa 细胞中。

2天后，使用琼脂糖凝胶电泳分析经 PCR 扩增后，以限制性内切酶 BamHI 处理的含有靶基因片段的样品。

GenomONE®-GE的敲入效率为21%。

产品编号	制造商编号	产品名称	包装
384-15261	GG001	GenomONE®-GE	1 set
380-15263	GG004		4 set
388-15264	GG016		16 set

相关产品

Cas9 蛋白

以下Cas9 蛋白已通过GenomONE®-GE导入HeLa、U-937、Jurkat 的实验验证。

产品编号	产品名称	包装
319-08641	Cas9 Nuclease protein NLS (3 µg/µL)	75 µg
316-08651	Cas9 Nuclease protein NLS (15 µg/µL)	300 µg

gRNA 合成试剂盒

产品编号	产品名称	包装
314-08691	CUGA®7 gRNA Synthesis Kit	50次

特点

- 可以将siRNA/miRNA导入转染困难的**悬浮免疫细胞**中
- 只需添加各种试剂的简单操作（5~10 min完成）
- 亦适用于高通量筛选

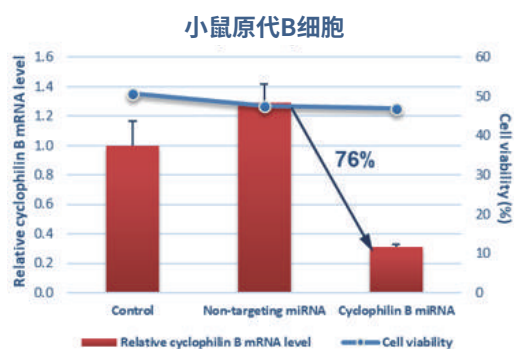
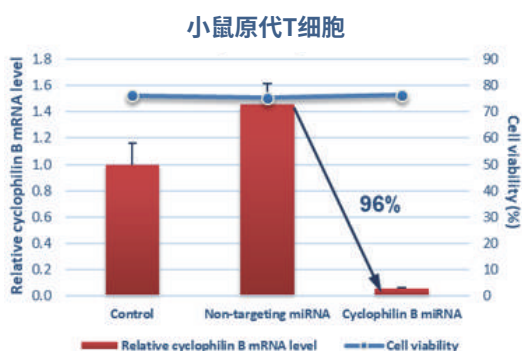
应用数据

向小鼠原代T细胞, B细胞导入Cyclophilin B靶向miRNA

使用从BALB/c小鼠中提取的脾细胞用PMA/ionomycin刺激T细胞一天后, 过筛分离。

使用从BALB/c小鼠中提取的脾细胞用anti-CD40/LPS中刺激B细胞一天后, 过筛分离。

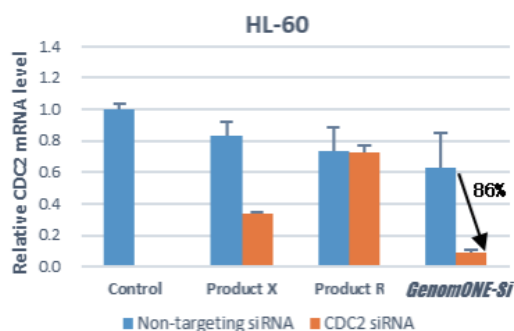
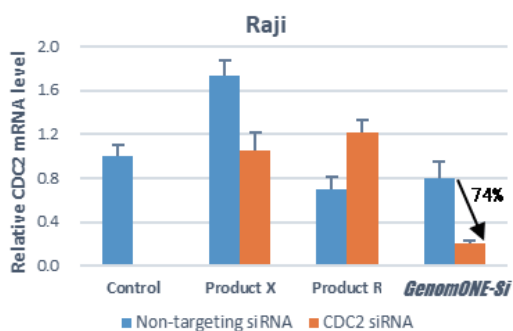
使用GenomONE® -Si导入Cyclophilin B靶向的miRNA, 2天后通过RT-qPCR确认基因敲减效果。



小鼠原代T细胞、B细胞均检测到Cyclophilin B的表达下调。

向转染困难的细胞中导入CDC2靶向siRNA

分别使用 GenomONE® -Si、其他公司产品X、其他公司产品R将CDC2靶向siRNA导入转染困难的免疫细胞株Raji(人淋巴瘤细胞)、HL-60(人骨髓细胞白血病细胞)中。2天后通过RT-qPCR确认基因敲减效果。



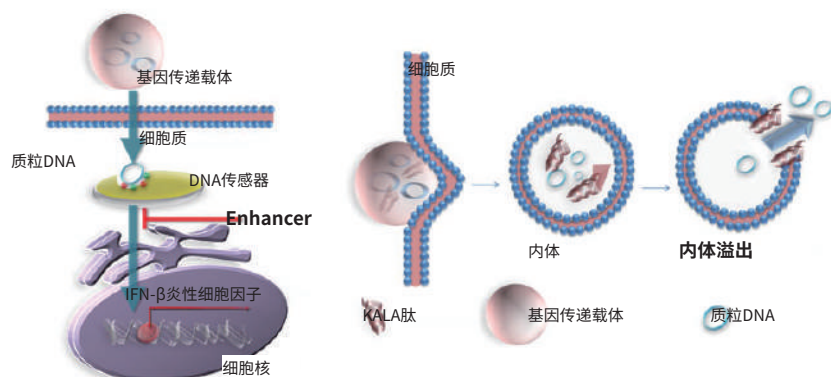
即使是转染困难的**免疫细胞株**, GenomONE® -Si也能有效地敲减基因。

产品编号	制造商编号	产品名称	包装
388-15281	GS001	GenomONE® -Si	1 set
384-15283	GS004		4 set
382-15284	GS016		16 set
388-15286	GS040		40 set

■ 特点

- HVJ-E与中性脂质物质组合的基因导入载体
- 操作简便，10 min内完成制备
- 配套Enhancer可增强基因表达
- 通过配合KALA肽使用可以提高基因表达

■ Enhancer及KALA肽提高基因表达的机制



Enhancer通过抑制由外源DNA引起的自然免疫信号，可改善受自然免疫信号抑制基因表达的细胞中的基因表达。

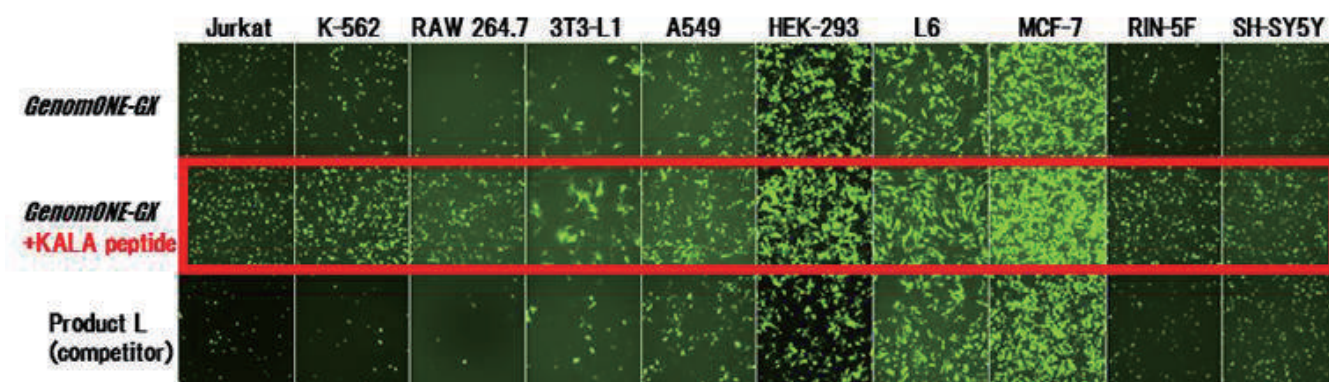
KALA肽可以通过作用于内体并增加释放到细胞质中的基因数量，从而提高基因表达。

※KALA肽需另行购买。

■ 应用数据

与其他公司产品比较基因表达

使用GenomONE® -GX、GenomONE® -GX+KALA肽以及其他公司产品L，将CAG启动子下游含有Turbo-GFP基因的质粒DNA导入各细胞中，2天后用荧光显微镜观察。



GenomONE® -GX与KALA肽配合使用，可在大部分细胞中发现基因表达的提高。总体获得了比其他公司产品L更高的基因表达结果。

产品编号	制造商编号	产品名称	包装
385-15291	GX001	GenomONE® -GX	1 set
381-15293	GX004		4 set
389-15294	GX016		16 set
385-15296	GX040		40 set

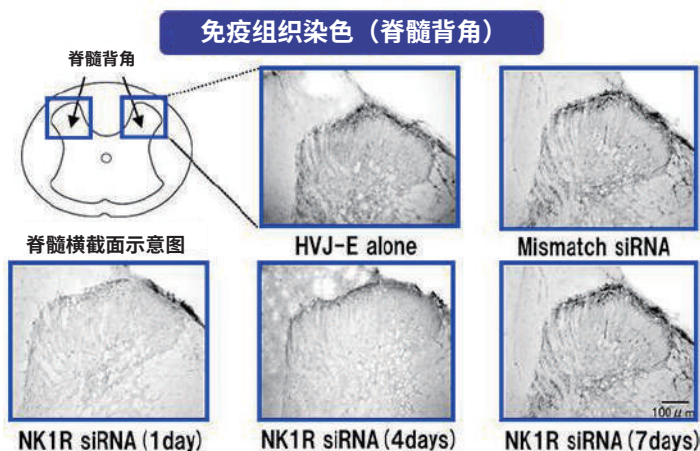
■ 特点

- 通过膜融合向细胞内导入质粒DNA、siRNA / miRNA、蛋白等各种大分子
- 适用于转染困难的**免疫细胞**
- 适用于**动物活体转染***

※ 由于HVJ-E会引起红细胞凝集，因此建议选择与血液接触较少的给药方式或在给药前进行灌注处理。

■ 应用数据

向大鼠髓腔内导入siRNA

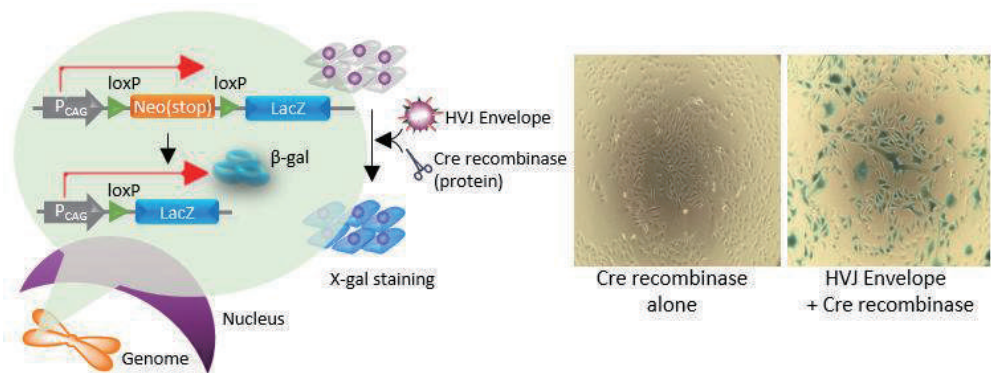


使用HVJ-E将NK1R siRNA通过髓腔内置留的导管导入到骨髓中。

图中可观察到导入后1~7天内NK1R的表达抑制。

【数据提供】
东北医科药科大学

向细胞内导入Cre重组酶 (蛋白)



使用HVJ-E向基因组中插入了PCAG-loxP-Neo-loxP-LacZ表达元件的非洲绿猴2-2细胞导入Cre重组酶 (蛋白)。

Cre重组酶切除基因组中插入的新霉素抗性基因后，细胞中的LacZ基因开始表达，通过X-gal将其染成蓝色。

产品编号	制造商编号	产品名称	包装
381-15271	GN01F	GenomONE®-Neo (FD)	1 set
387-15273	GN04F		4 set
385-15274	GN16F		16 set
381-15276	GN40F		40 set

■ 用途

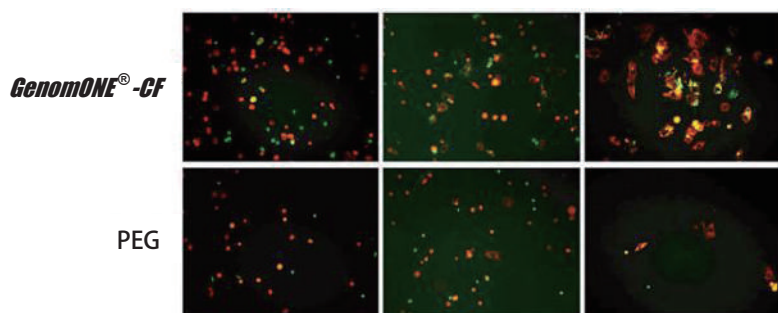
- 制备杂交瘤（使用B细胞与骨髓瘤细胞杂交瘤制备单抗等）
- 应用于癌细胞与树状细胞融合的癌症免疫研究
- 应用于内脏来源细胞与干细胞融合的再生医疗研究
- 应用于对去核未受精卵的核移植（核置换）等发育、繁殖和育种的研究
- 替代电转、PEG
- 贴壁、悬浮细胞均可用

■ 应用数据

制备杂交瘤（与PEG法比较）

产品名称	Supplement (BM condimed H1)	杂交瘤阳性孔数 (阳性率 %)	抗体产生阳性孔数 (阳性率 %)
GenomONE®-CF	-	38/96 (40%)	9/96 (9%)
	+	96/96 (100%)	96/96 (100%)
PEG	-	3/96 (3%)	1/96 (1%)
	+	36/96 (38%)	9/96 (9%)

异种细胞融合（与PEG法比较）



取红色荧光标记的**大鼠骨髓来源间充质细胞**和**绿色荧光标记的大鼠原代心肌细胞**各 2×10^5 个在 50 μ L Cell Fusion Buffer 中混合后添加 HVJ-E 并在冰上孵育 5 min, 然后在 37°C 下反应 15 min, 观察融合细胞（黄色）。培养 1~2 天后, 观察贴壁的**融合细胞**。

PEG 法在融合后出现强烈的细胞毒性, 融合细胞数量少。

产品编号	制造商编号	产品名称	包装
387-15251	CF001	GenomONE®-CF	1 set
383-15253	CF004		4 set
381-15254	CF016		16 set

● 本文刊载试剂仅供实验、研究使用,不可用于“药物”,“食品”,“生活用品”。

生产商

ISK 石原産業株式会社

代理商

富士胶片和光(广州)贸易有限公司

www.boppard.cn

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼
3002-3003室

询价: info@boppard.cn

目录价查询: bb-china.net

北京 Tel: 010 64136388

上海 Tel: 021 62884751

广州 Tel: 020 87326381

香港 Tel: 852 27999019

官方微信



目录价查询

