

Nucleofector™ Technology

4D转染系统

全方位满足您的需求



Nucleofector™ 技术

随着系统生物学与交叉学科方法的应用,要求细胞和系统模型越来越接近体内细胞的功能。这就意味着将来的细胞转染多数会是原代细胞的转染。而传统的方法很难成功转染原代细胞。另外即使使用细胞系做为系统模型,传统的方法也难重复出好的细胞转染效率与成活率。Nucleofector™ 技术就从根本上解决这个问题,无论是原代细胞、干细胞、还是细胞系,它每次都重复出很高的转染效率。

1998年,Nucleofector™ 技术开发成功,2001年上市,是龙沙在市场上第一个有效的、非病毒介导的、用于原代细胞与难转细胞系的转染方法。现在Lonza还在继续不断改革创新,为研究者推出更多更好的新产品。

Nucleofector™ Technology – the Superior Non-viral Method

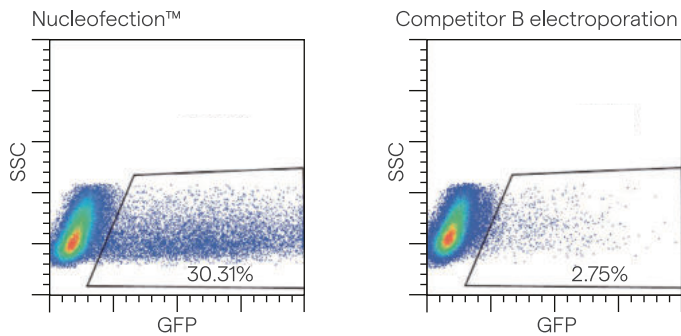


Figure 1. Transfection of the human natural killer cell line NKL using traditional electroporation and Nucleofection. 5×10^6 NKL cells were transfected with $2.5 \mu\text{g}$ of pmaxGFP™ Vector. Nucleofection: Nucleofector™ Solution V; Program 0-017. Competitor B electroporation: 25 mV, $96 \mu\text{F}$. Transfection efficiency was monitored by flow cytometry after 24 hours. Cells transfected by Nucleofection show a significantly better transfection efficiency compared to cells transfected by traditional electroporation. Cell viability, as measured 18 hours after transfection, was also superior using Nucleofection. (Data courtesy of Dr. John Coligan, Laboratory of Immunogenetics, NIH/NIAID, Rockville, MD, USA. *J Immunol Methods* [2004] 284: 133-140.)

原理

Nucleofector™ 技术是一种基于通过施加电脉冲在细胞膜中瞬间产生小孔,综合各种Nucleofector™ 程序和细胞类型特异性电转试剂,使核酸底物不仅可以输送到细胞质,还可以通过核膜进入细胞核。这使得细胞最高转染效率可达99%,并使转染成功不依赖于细胞的增殖分裂。

DNA Delivery Straight Into the Nucleus

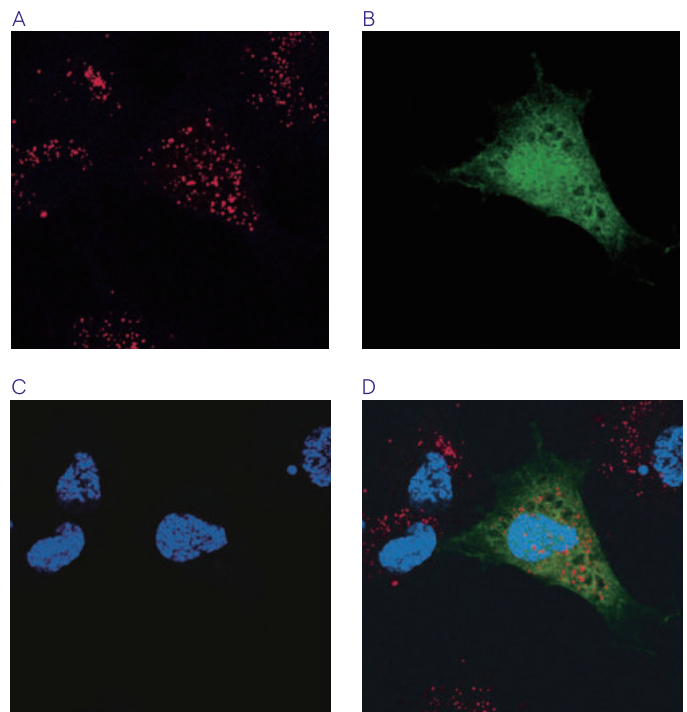


Figure 2. Normal human dermal fibroblasts (neonatal) were transfected with $2.5 \mu\text{g}$ TMR-labeled plasmid DNA encoding eGFP. After 2 hours, cells were fixed with 3.5% PFA and analyzed by confocal microscopy. TMR label is shown in (A), GFP fluorescence in (B), DAPI nuclear staining in (C) and a merge of all three fluorescent labels in (D).

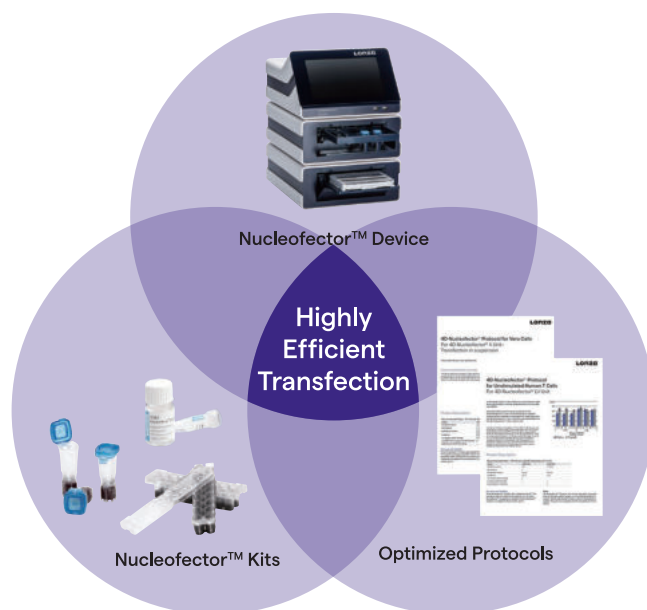
Nucleofector™ 技术的组成

Nucleofector™技术由Nucleofector™仪器、细胞特异性的缓冲液和操作手册组成。

Nucleofector™仪器:内置针对各种细胞优化好的电脉冲程序, 程序可在仪器触摸屏上直接选择。Lonza提供了不同功能模块平台, 可供大家选择 (X模块, Y模块, 96孔模块, LV模块及384孔模块)。

试剂盒:试剂盒是包含有细胞特异性缓冲液, 补充剂, 专用电极耗材, pmaxGFP™阳性质粒等。细胞特异性缓冲液和补充剂为细胞转染提供保护, 既保证了高转染效率与细胞活率, 又帮助细胞维持良好的生理功能性状。我们提供有一系列的优化转染试剂盒与操作手册。

数据库与操作手册,在我们的数据库中为大家提供600种以上细胞的转染数据和操作手册。优化的操作手册除了操作指导外, 还包括细胞来源、传代、生长条件、培养基以及转染后培养等细节技巧。



	优化/生产			高通量筛选	
	悬浮	贴壁	贴壁	悬浮	悬浮
*用于原位贴壁电转流程					
模块	4D-Nucleofector™ LV Unit	4D-Nucleofector™ X Unit	4D-Nucleofector™ Y Unit*	4D-Nucleofector™ 96-Well Unit	384-well 4D-Nucleofector™ System
通量	非常低	低-中等	中等	高	非常高
反应体系					
细胞数量	10 ⁷ to 10 ⁹	20µl: 10 ⁴ to 10 ⁶ 100µl: 10 ⁵ to 10 ⁷	10 ⁴ to 10 ⁵	10 ⁴ to 10 ⁶	10 ⁴ to 10 ⁶

Next Generation 4D-Nucleofector™ Platform



自2011年至2021年, Lonza 4D Nucleofector上市已有10年历史, 并受到了客户的广泛认可。2021年5月, 我们推出了新一代4D-Nucleofector™系统, 该系统以不变的性能提供更友好的用户体验。

下一代4D-Nucleofector™的特点:

- 将96孔模块集成为4D-Nucleofector™的一个功能单元
- 响应速度更快的用户界面
- 更大的屏幕, 改善用户体验
- 新处理器为高级图形、远程接口和网络集成提供更多计算能力

下方显示了两代机器的性能比较:

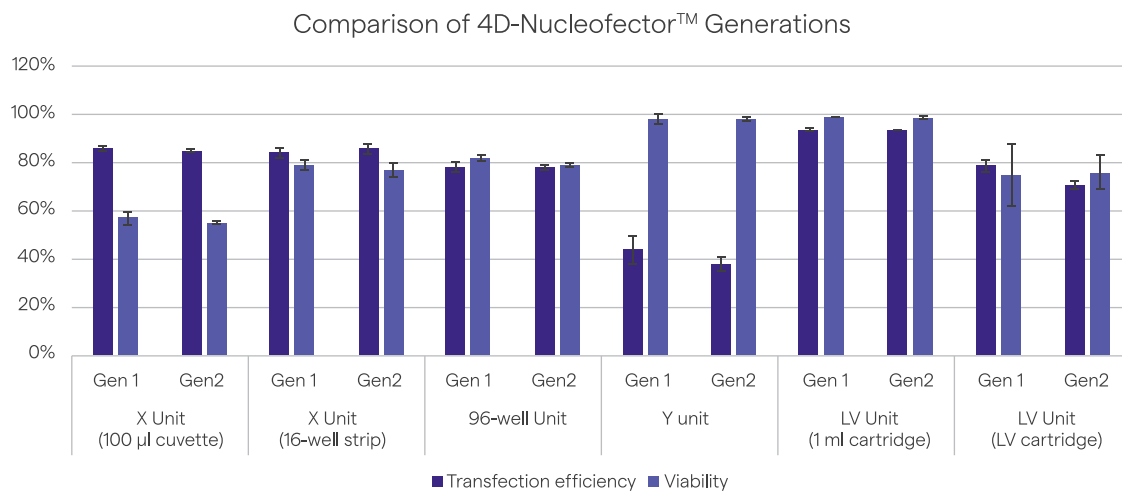


Figure 3. Comparison of 4D-Nucleofector® Units of first (Gen 1) and next (Gen 2) generation for all functional units. Bars represent transfection efficiencies for maxGFP™ protein and viabilities for different cell types: Jurkat cells (X Unit and 96-well Unit), NHDF-neo (Y Unit and LV Unit with 1 mL cartridge) and suspension HEK293 cells (LV Unit with LV cartridge).

先进的平台

4D Nucleofector™ 系统提供更加灵活的多模块

基于大量客户的反馈, Lonza的工程师与科学家开发出的新一代创新性的4D-Nucleofector™转染系统, 这个系统设计把兼容性最大化, 使几种转染方式结合在一起, 得到更好的转染效果, 使用也更加方便。

4D-Nucleofector™系统是一种模块化系统, 最基本的功能模块包括Core模块, X模块。各模块可以叠放在一起。您也可以根据您的需求任意增减模块。仪器内置软件可设计与保存您不同的实验。软件升级可在Core模块上的USB口完成。



操作简单灵活

- 不同的转染体系 (20ul与100ul) 使用相同的操作手册
- 100ul 转染细胞数量最多可达 2×10^7
- 20ul 转染细胞数量最少到 2×10^4
- 1ml 以上大体积流动电转盘可最多电转 10^9 数量级细胞

通量多元化

- 可以在20ul里实现1-96, 甚至384个通量
- 可平行进行1-2 100ul 样品
- 可预设50个以上参数, 针对100ul 体系
- 可根据您的要求选择20ul体系减少试剂费用支出

转染原代细胞

- 5种试剂盒可覆盖所有原代细胞类型
- 转染优化实验更加简便(如果您的细胞在数据库中, 没有则需要进行优化)
- 使用96模块可使优化更快捷

保护细胞功能

- 贴壁转染模块(Y模块) 无需消化就可转染, 更好的保护细胞功能, 特别适用于发育到后期的神经元转染
- 4D系统采用可导电聚合材料电极, 对细胞无金属离子毒害

1 Core模块-控制4D-Nucleofector™系统

- 运行软件, 设计与保存实验
- 最多可联接4个功能模块(X, Y, 96-well, LV)
- 使用USB来升级软件系统, 增加数据库

2 X模块-悬浮转染模块

- 集合2个100ul电极杯位置, 和20ul 16孔板条位置
- 可转染 10^4 到 10^7 的细胞

3 Y模块-贴壁转染模块

- 贴壁细胞无需消化, 可直接在24孔板上进行转染

4 96孔模块-中通量转染模块

- 可在5 min内实现1-96个不同样本的转染

5 LV模块-大规模转染模块

- 适用于1ml或流式体系转染

最具兼容性的模块: Nucleofector™ X模块

针对不同数量级的细胞, 提供不同的电极耗材。

X模可以使用两种不同形式的聚合材料电极, 分别是如下电极杯与电极板条。

100ul 电极杯

可导电聚合材料的电极杯替代了原来铝制电极杯
低通量但是一次可转大量的细胞 (适用于生化应用或 Western Blots)



16-well 20ul 电极板条

与96孔电极板的板条一致
中通量, 低细胞数量 (报告基因分析, RNAi)



可在相同的条件下转不同数量细胞

X模块使用的相同材质制成的20ul电极板条与100ul电极杯, X模块中不同的电极模式可选用相同的电转程序 (系统可自动转化应用于不同模块的参数, 客户无需进行额外操作), 实现实验的方便性与灵活性最大化。

一旦其中一种电极形式优化好, 另一种就很容易转化好。不同通量的电转条件也很容易转化(4D-Nucleofector™ System, 96-well unit and HT Nucleofector™ System)。

Transferability Between Nucleofection Conditions Between Different Formats

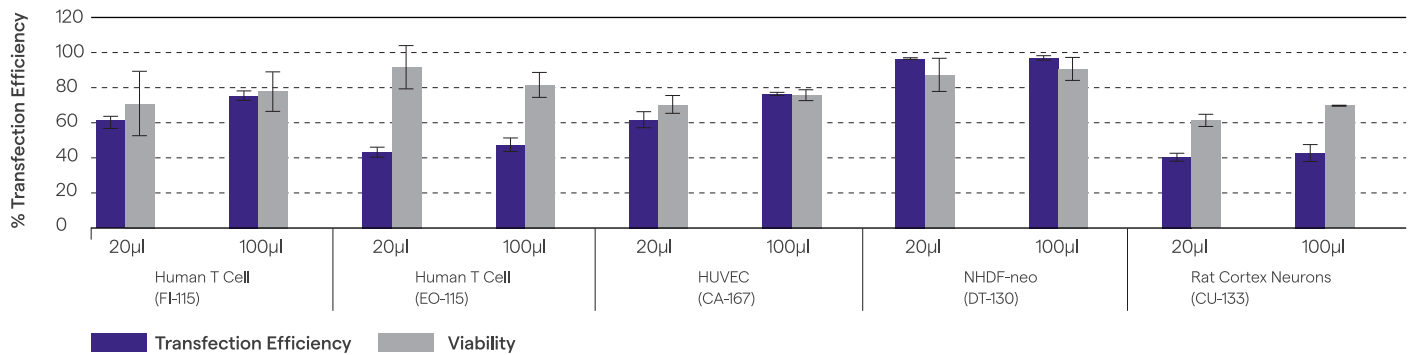


Figure 4. Various primary cells were transfected in the two Nucleocuvette™ vessel formats (20μL and 100μL) using the indicated programs. Twenty-four hours post Nucleofection cells were analyzed for transfection efficiency (flow cytometry) and viability (cell number normalized to no program control).

贴壁转染模块: 4D-Nucleofector™ Y 模块

至今为止, 基于电转的方法都是要求细胞处于悬浮状态, Nucleofector™进入一个新时代, 细胞可以在贴壁状态下直接转染。维持细胞在贴壁生长生理状态下完成转染实验。细胞培养在24孔板上, 插入电极板即可完成转染。

优势

- 转染前与转染后都可在24孔板中 - 可在细胞生长的任何时期进行转染
- 成活率高, 转染效率最高可达75%
- 与Clonetics™原代动物神经元兼容

耗材

根据简化试剂盒的原则, 我们提供两种转染试剂AD1与AD2, 适用于所有细胞类型。每种试剂应用于不同的细胞类型, 通过下方的指南, 您将很容易找到适用于您细胞的试剂类型。

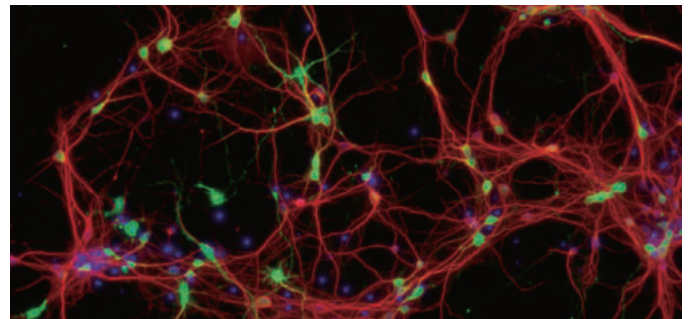


Figure 5. Efficient adherent Nucleofection of neurons in 24-well culture plates. Mouse cortical neurons were seeded into poly-D-lysine coated 24-well plates (1×10^5 cells/well) After 6 DIV, cells were transfected with pmaxGFP™ Vector using the AD1 4D-Nucleofector™ Y Kit. One day post Nucleofection, cells were stained by MAP2 antibody (red) and analyzed by fluorescence microscopy for maxGFP™ protein expression.

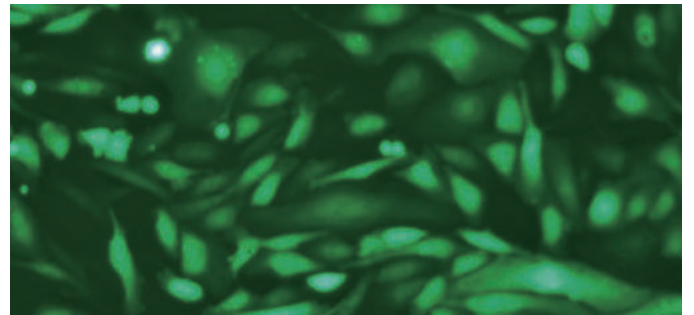
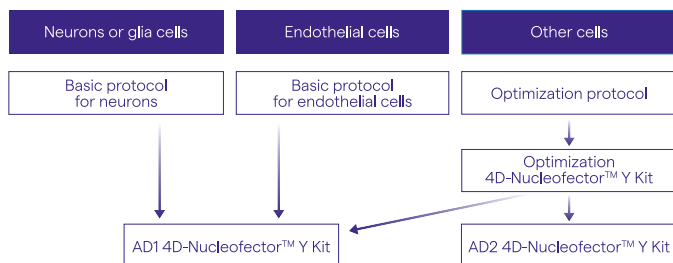


Figure 6. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were isolated and plated in passage 1 into collagen-coated 24-well plates at a density of 50,000 cells/well. After 1DIV cells were transfected with 16µg pmaxGFP™ Vector using AD1 4D-Nucleofector™ Y Solution and program CA-215. Cells were analyzed for maxGFP™ Protein expression after 24h. (Data kindly provided by M. Sauvage, Pharmaceutical Industry, FR)



高通量转染模块: 4D-Nucleofector™ 96孔模块

在全新升级的96-well模块中, 已完全集成为4D-Nucleofector™家族的一员, 可直接与4D-Nucleofector™ Core unit 进行连接使用。

96-well模块为一系列原代细胞和细胞系提供灵活的通量以及经济的处理体系、快速和预先优化的方案。它是4D-Nucleofector™设备的中等通量扩展, 适用于便捷地优化核转染条件或作为筛选(CRISPR screening, TCR screening)的一种工具。



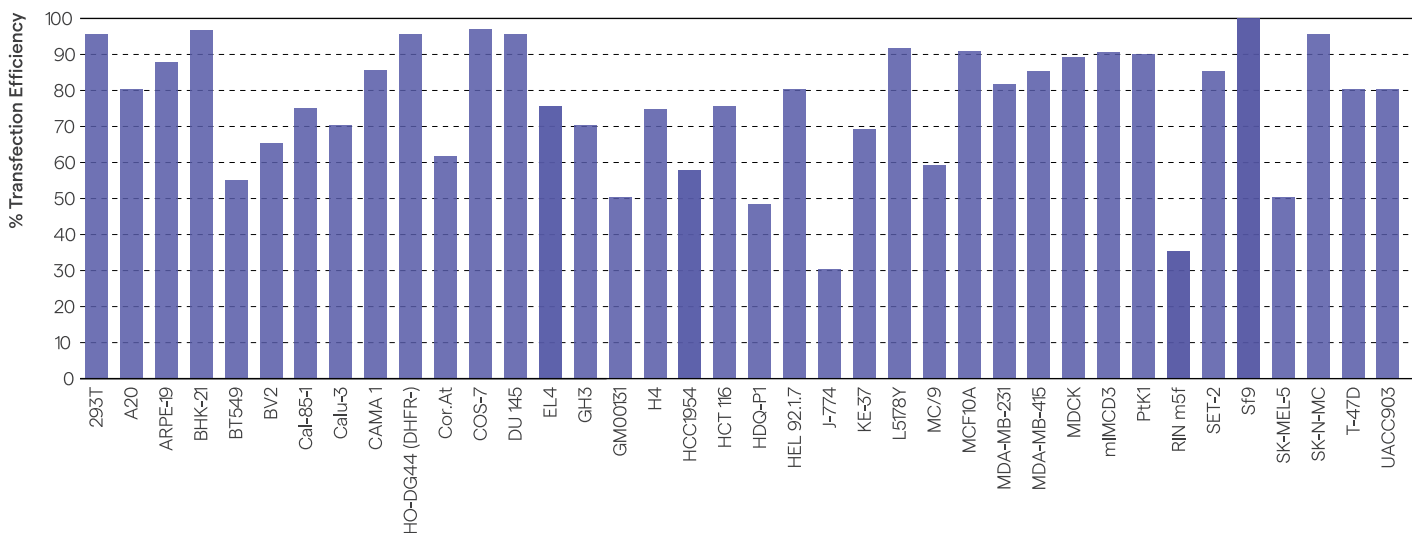
耗材

- P1 - P5 96孔Nucleofector™转染原代细胞试剂盒
- 用于转染细胞系的SE、SF和SG 96孔Nucleofector™试剂盒
- 原代细胞和细胞系优化试剂盒

优势

- 每块板最多可运行96个独立程序, 在5分钟内自动处理
- 模块化 6 × 16 Nucleocuvette™板可实现可扩展的通量
- 可无缝集成到自动化液体处理系统中
- 只需 1 个板即可优化任何难以转染的细胞
- 每个反应的细胞数为 $10^4 - 10^6$ 个细胞

Optimization of Nucleofection Conditions Within Just One Experiment



Examples of cell lines that have been optimized by customers using the Cell Line Optimization 96-well Nucleofector™ Kit.

高通量转染模块: 384孔 Nucleofector™ 系统

384-well Nucleofector™系统是一个独立的平台,用于384孔的高通量核转染。凭借一分钟的极短的处理时间和高重现性,使它成为筛选应用的理想工具。此外,Nucleofector™溶液中的细胞储存时间被缩至最短,所有现有的96孔Nucleofector™方案无需进一步优化即可使用。

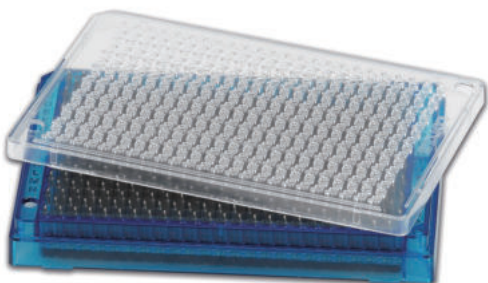
384-well Nucleofector™系统由三个组件组成:

- 产生高压脉冲的电源单元
- 带有电动转盘的板处理单元
- 直观的基于PC的操作软件,可轻松对384-well Nucleofection实验进行参数设置,并可无缝集成到市场领先的液体处理系统中



耗材

384-well Nucleofector™试剂盒使用现有的96孔Nucleofector™方案,但包含特定的导电聚合物384孔Nucleocuvette™板。这些板符合SBS标准,可以通过自动液体处理系统进行处理。384孔中的每一个都可以独立进行条件设置。由于使用了导电聚合物比色皿,因此细胞不再受到金属离子的影响。



优势

快速高效助力筛选

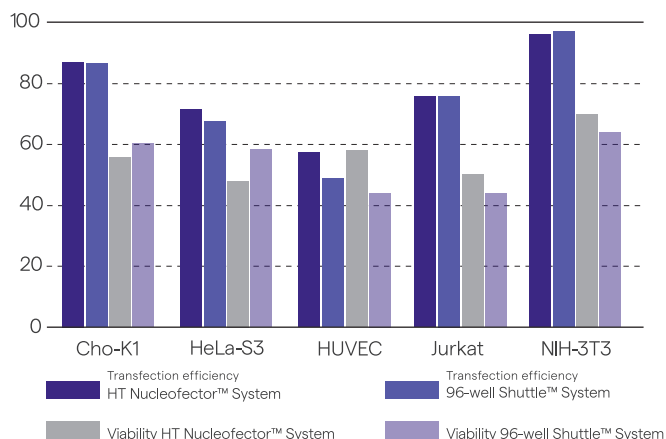
- 在一分钟内处理一个384孔板

高性能与低材料消耗相结合

- 转染细胞数可低至 2×10^4 个细胞

易于使用和自动化的系统

- 使用现有的96孔Nucleofector™实验方案
- 由直观的PC软件操作
- 无缝集成到自动化液体处理系统中



Same conditions used for the 96-well Shuttle™ and the HT Nucleofector™ Systems. The HT Nucleofector™ System works with 96-well Shuttle™ Parameters, thus the full spectrum of already optimized protocols is available for the HT Nucleofector™ System.

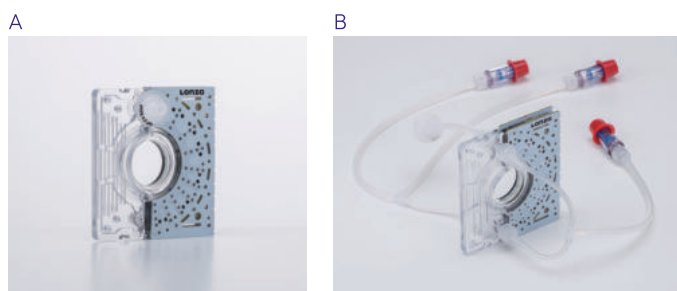
大体积转染模块: 4D-Nucleofector™ LV 模块

4D-Nucleofector LV单元, 将我们经验证的4D-Nucleofector系统扩展到更大规模的转染范围。

LV单元可以对 1×10^7 至 1×10^9 个细胞范围内对人原代细胞进行封闭、可扩展的体外修饰。可以利用X单元以较小的规模建立转染方案, 随后将其转移到LV单元, 而无需重新优化或少量的优化。它支持多种应用, 如CAR-T细胞生成、CRISPR基因组编辑, 便于快速将研究成果转化为符合GMP的细胞疗法生产过程。



两种体系可用于科研或GMP用途

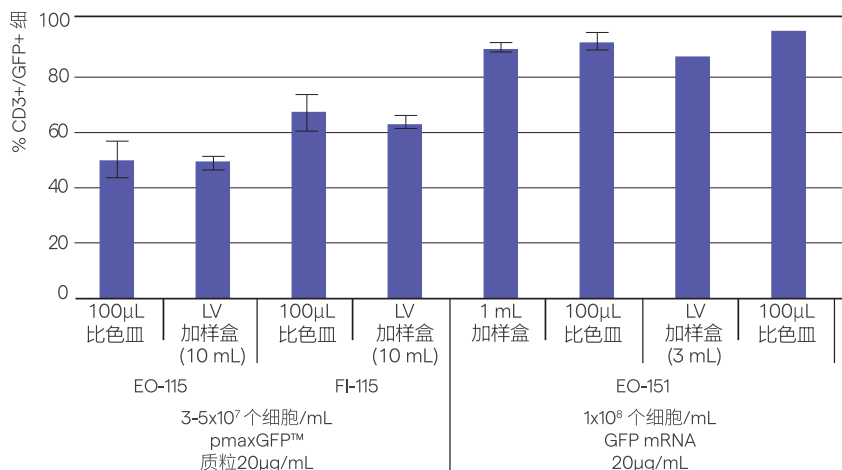


Two formats available. (A) 1mL Nucleocuvette™ Cartridge: 1mL filling volume for up to 1×10^8 cells (manual filling via sterile injection port) (B) LV Nucleocuvette™ Cartridge: Up to 20mL processing volume (in 1 mL steps) for up to 1×10^9 cells (automatic filling via reservoirs or bags)

优势

- 封闭的系统 - 核转染细胞数量多达 10^9 个
- 规模可真正放大 - 以少量样品建立最优方法
- 成熟的转染方案 - 超过700多个优化细胞类型
- 操作简单 - 极少的培训需求
- 4D-Nucleofector™ LogWare - 可使用符合21CFR part 11的软件进行操作
- TheraPEAK™ Nucleofector™耗材 - 加快满足GMP过程要求的进度

可从小规模向大规模转移



用质粒DNA或mRNA转染人原代T细胞通过100µL Nucleocuvette™电极杯、1mL Nucleocuvette™加样盒或流式LV Nucleocuvette™加样盒, 用pmaxGFP™质粒或GFP mRNA转染新鲜PBMC。核转染后24小时分析CD3阳性T细胞的转染效率。质粒数据代表各种独立实验的平均值。mRNA数据基于重复(小规模)和单一(大规模)数值。

符合21CFR Part 11合规性软件:4D-Nucleofector™ Logware

对于4D-Nucleofector™系统, 龙沙提供的附件产品可为上游GMP制造环境中的转染应用提供更高的质量标准。

优势

- 符合 Title 21 CFR Part 11 /annex 11
- 用户管理
- 带有用户名和密码的电子签名
- 使用时间戳记录任何修改、数据创建或用户交互
- 使用失败描述报告结果失败
- 根据 Title 21 CFR Part 11 导出数据
- 生成审计跟踪
- 无法删除数据



开放的数据库及应用空间:

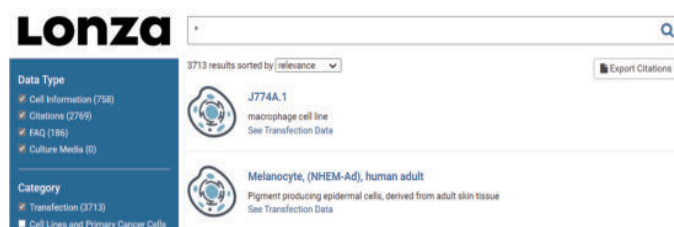
Lonza网站Knowledge center

全球开放并长期更新的数据库, 旨在帮助用户更好地使用 Lonza Nucleofector™技术。

<https://knowledge.lonza.com/>

数据库中包含了超600种细胞类型的转染信息, 并为上百种常用细胞类型提供详细的实验方案。

我们强烈建议用户经常访问该数据库, 它不仅仅包含了细胞相关的转染信息, 还包含全球客户常见的问题及解答, 以及不定期更新热门应用新发表的出版物等供您参考。



中国微信Lonza应用空间

为更好地服务中国用户, 满足中国用户访问及使用的便利性, 我们还在Lonza Bioscience的官方微信公众号上线了独特的应用空间, 不定期的发布全球前沿应用经验/资讯。

这是一个集合了产品资料、应用教学以及最新资讯, 助您快速了解Lonza Bioscience产品、应用和活动的一站式微信服务平台。



产品列表

货号	产品名	描述	规格
Nucleofector™ Devices and Systems			
384-well Nucleofector™ System			
AAU-1001	384-well Nucleofector™ System	Includes power supply, plate handler, laptop, and software	
4D-Nucleofector™ System			
AAF-1003B	4D-Nucleofector™ Core Unit		
AAF-1002L	4D-Nucleofector™ LV Unit	Including 2 LV reservoir racks. Requires the core unit to build complete system	
AAF-1003X	4D-Nucleofector™ X Unit	Requires the Core Unit to build complete system	
AAF-1003Y	4D-Nucleofector™ Y Unit	Requires the Core Unit to build complete system	
AAF-1003S	4D-Nucleofector™ 96-well Unit	Requires the Core Unit to build complete system	
Nucleofector™ Kits			
V4XC-1024	SE Cell Line 4D-Nucleofector™ X Kit L	100 µL Nucleocuvette™ Vessel	24 reactions
V4XC-2024	SF Cell Line 4D-Nucleofector™ X Kit L	100 µL Nucleocuvette™ Vessel	24 reactions
V4XC-2032	SF Cell Line 4D-Nucleofector™ X Kit S	20 µL Nucleocuvette™ Strip	32 reactions (16-well)
V4XC-3024	SG Cell Line 4D-Nucleofector™ X Kit L	100 µL Nucleocuvette™ Vessel	24 reactions
V4XC-9064	Cell Line Optimization 4D-Nucleofector™ X Kit	20 µL Nucleocuvette™ Strip	64 reactions (16-well)
V4XP-2024	P2 Primary Cell 4D-Nucleofector® X Kit L	100 µL Nucleocuvette™ Vessel	24 reactions
V4XP-2032	P2 Primary Cell 4D-Nucleofector® X Kit S	20 µL Nucleocuvette™ Strip	32 reactions (16-well)
V4XP-3024	P3 Primary Cell 4D-Nucleofector® X Kit L	100 µL Nucleocuvette™ Vessel	24 reactions
V4XP-3032	P3 Primary Cell 4D-Nucleofector® X Kit S	20 µL Nucleocuvette™ Strip	32 reactions (16-well)
V4XP-4024	P4 Primary Cell 4D-Nucleofector® X Kit L	100 µL Nucleocuvette™ Vessel	24 reactions
V4XP-9096	Primary Cell Optimization 4D-Nucleofector™ X Kit	20 µL Nucleocuvette™ Strip	96 reactions (16-well)
V4YP-1A24	AD1 4D-Nucleofector™ Y Kit	24-well Dipping Electrode	24 reactions
V4YP-2A24	AD2 4D-Nucleofector™ Y Kit	24-well Dipping Electrode	24 reactions
V4SC-2096	SF Cell Line 96-well Nucleofector™ Kit	20 µL Nucleocuvette™ Plate	96 reactions (96-well)
V4SP-3096	P3 Primary Cell 96-well Nucleofector™ Kit	20 µL Nucleocuvette™ Plate	96 reactions (96-well)
V4LP-3002	P3 Primary Cell 4D-Nucleofector™ LV Kit L	1 mL Nucleocuvette™ Cartridge	2 reactions
V4LP-3020	P3 Primary Cell 4D-Nucleofector™ LV Kit XL	LV Nucleocuvette™ Cartridge	1 reaction
V5SP-3002	P3 Primary Cell 384-well Nucleofector™ Kit	20 µL Nucleocuvette™ Plate	768 reactions (384-well)
VCA-1003	Cell Line Nucleofector™ Kit V	100 µL aluminum cuvette	25 reactions
VPA-1002	Human T Cell Nucleofector™ Kit	100 µL aluminum cuvette	25 reactions
GMP-grade consumables			
G4LP3-22500	TheraPEAK™ P3 Nucleofector® Solution Set		22.5 mL + 5 mL
G4LP3-126000	TheraPEAK™ P3 Nucleofector® Solution Set		126 mL + 28 mL
G4LN-7501	TheraPEAK™ 1 mL Nucleocuvette® Cartridge - coming soon		5 reactions
G4LN-7520W	TheraPEAK™ LV Nucleocuvette® Cartridge, weldable tubing		5 reactions
G4LR-1501W	TheraPEAK™ 4D-Nucleofector® Reservoir, weldable tubing		5 reactions



Lonza授权代理商

上海玮驰仪器有限公司

总公司：上海市浦东新区环科路999弄浦东国际人才港13号楼2楼

400-820-3556 | Marketing@weichilab.com | www.weichilab.com

分公司：江苏省苏州市工业园区新平街388号21幢5层08单元

0512-65107980 | Marketing@weichilab.com | www.weichilab.com

