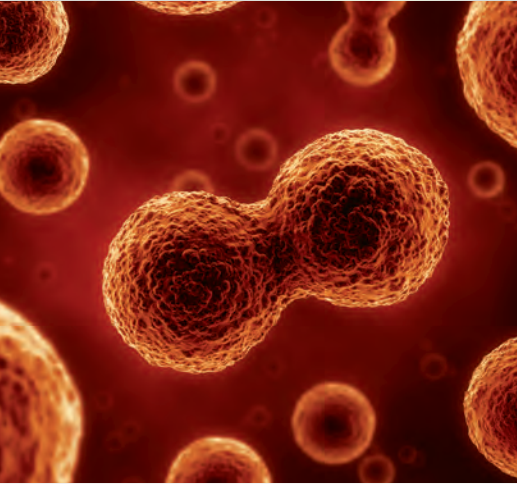


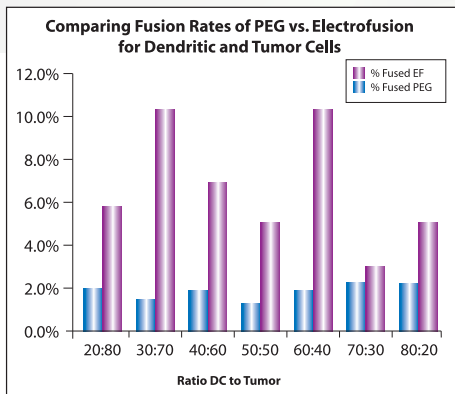
# 哺乳动物, 卵母细胞 & 植物细胞 电融合



电融合是一种高效、可重复、无毒的技术，广泛应用于各类研究。在过去的十年里，电融合应用数量大大增加，包括用于杂交瘤生成、干细胞开发、转基因植物原生质体融合、四倍体融合和核移植等。许多应用在诊断、疾病治疗和疫苗开发方面具有潜在的临床意义。

ECM2001+是一款多功能的电穿孔电融合仪，这款仪器可以输出AC交流波和DC方波两种波形，适用于杂交瘤生成、植物原生质体融合、胚胎操作和哺乳动物细胞转染等。在电融合过程中，细胞置于透明的融合池或微型载玻片中，可在显微镜下观察细胞融合过程，且更易操作。首先，交流正弦波产生温和的电泳力促进细胞成串排列，随后在方波作用下，临近细胞融合，最后施加的交流正弦波稳定已经融合的细胞。相对于化学方法，电融合效率会更高。如果单独使用直流方波可高效完成细胞系或难转染细胞（如干细胞或原代细胞）的转染，活体组织或卵母细胞的基因导入。

## 两种细胞融合方法比较结果



## PEG融合和电融合效率比较 树突细胞 (dendritic cell) 和肿瘤细胞融合 电融合效率远远高于PEG融合

Rimas J.Orentas, Dennis Schauer, Qian Bin, and Bryon D. Johnson;  
Electrofusion of a weakly Immunogenic Neuroblastoma with Dendritic  
Cells Produces a Tumor Vaccine. Cell. Immunol 2001;213: 4-13.

## 应用

- 杂交瘤生成
- 核移植
- 干细胞生成
- 哺乳动物细胞融合
- 哺乳动物细胞转染
- 卵母细胞转染
- 活体应用

## AC/DC

AC交流波频率可调且范围广 (0.2到2.0 MHz)，DC方波前后可设置多个AC步骤，使细胞能够有效地形成串珠状进行融合，并稳定已经融合的细胞。DC电压可调范围在5V至3000V，脉冲时间为0.01-999ms，且能设置多个直流脉冲，具有强大的电融合和电穿孔能力。

## 多功能系统

ECM2001+不仅是一款高效的电融合系统，能够广泛应用于各种细胞融合应用，同时也是一款功能强大的电穿孔仪。ECM2001+拥有较宽的电压和脉冲时间范围，可根据实验方案调整脉冲参数，因此该系统成为哺乳动物细胞高效转染的有效工具。

## 植物原生质体融合

电融合技术可以进行植物原生质体的融合，产生杂交后代，创造出具有理想性状的作物。交流正弦波产生温和的电泳力促进原生质体成串排列，在方波作用下，临近细胞融合，最后施加AC交流波稳定已经融合的细胞。该方法与普通的化学方发相比没有细胞毒性，对细胞伤害更小。

## 杂交瘤和细胞融合

电融合是一种高效、高重复性，无毒的细胞融合方法。最常见的应用是杂交瘤的生成和癌症疫苗开发。据报道，通过电融合手段可以显著提高树突状细胞肿瘤细胞的融合率，与PEG化学方法相比，电融合在建立小鼠肿瘤模型中的作用更为突出 (Parkhurst et al. 2003)。

其它的电融合应用包括四倍体胚胎生成，转基因动物核移植和干细胞研究等。与化学融合方法比，电融合不仅提高了效率，融合后杂交细胞的存活率也提高了 (Orentas et al. 2001)。

## ECM™ 2001+

电融合和电穿孔系统

ECM 2001+ 是一套多功能的电融合和方波电穿孔仪，可以输出交流波和直流方波电脉冲。本系统集成经典款ECM2001和Hybrimmune的优点，能够快速高效的完成杂交瘤细胞生成，杂交细胞电融合和核移植操作。同时直流方波可单独高效完成细胞系或一些难转染细胞如干细胞和原代细胞的转染。



## 核移植

核移植是利用AC/DC电脉冲融合细胞膜，将供体细胞的细胞核引入未受精的受体卵母细胞的方法。该技术通常用来生产可表达治疗性蛋白的转基因动物，这些蛋白可在多种动物中表达，包括牛、山羊、猪和绵羊等多种物种。转基因动物研究也广泛用来研究基因功能和开发干细胞用于临床研究。



## 载玻片电极

BTX载玻片电极用于小体系的动物细胞或植物原生质体融合、核移植、杂交瘤生成和胚胎操作。整个过程可在显微镜下观察。

## 大体系统电融合室

本系统可配备2ml、9ml两种规格的同轴电融合室用于杂交瘤制备。2ml规格的融合池底部是透明的，可在显微镜下观察细胞的串珠状态，有利于优化实验。通过2ml电融合室优化出来的实验方案可直接用于9ml电融合室。



## References

Kim GA, et al. Generation of CMAHKO/GTKO/shTNFRI-Fc/HO-1 quadruple gene modified pigs. *Transgenic Res*. 2017 Aug; 26(4): 435-445.

Sper RB, et al. Generation of a Stable Transgenic Swine Model Expressing a Porcine Histone 2B-eGFP Fusion Protein for Cell Tracking and Chromosome Dynamics Studies. *PLoS ONE*. 2017; 12(1): e0169242.

Huan YJ, et al. Alteration of the DNA methylation status of donor cells impairs the developmental competence of porcine cloned embryos. *J Reprod Dev*. 2016; 62(1): 71-77.

Jeong YH, et al. Knock-in fibroblasts and transgenic blastocysts for expression of human FGF2 in the bovine  $\beta$ -casein gene locus using CRISPR/Cas9 nuclease-mediated homologous recombination. *Zygote*. 2016; 24(3): 442-456.

Sun Y, et al. Deletion of a Yci1 domain protein of *Candida albicans* allows homothallic mating in MTL heterozygous cells. *mBio*. 2016;7(2): e00465-16.

Thornburg NJ, et al. H7N9 influenza virus neutralizing antibodies that possess few somatic mutations. *J Clin Invest*. 2016; 126(4): 1482-1494.

Wang K, et al. Efficient generation of orthologous point mutations in pigs via CRISPR-assisted ssODN-mediated homology-directed repair. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2016 Nov;5(11): e396.

Mangan PR, et al. Dual inhibition of interleukin-23 and interleukin-17 offers superior efficacy in mouse models of autoimmunity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2015; 354(2): 152-165.

Wang K, et al. Efficient generation of myostatin mutations in pigs using the CRISPR/Cas9 system. *Sci Reports*. 2015; 5, 16623.

Zhang Y, Luo W, Wang Y, Liu Y, Zheng L. Purified dendritic cell-tumor fusion hybrids supplemented with non-adherent dendritic cells fraction are superior activators of antitumor immunity. *PLoS ONE*. 2014;9(1): e86772.

Tan C, et al (2013). Impact of anti-CD25 monoclonal antibody on dendritic cell-tumor fusion vaccine efficacy in a murine melanoma model. *J Transl Med*. 2013; 11(1): 148.

Parkhurst MR, et al. Hybrids of Dendritic Cells and Tumor Cells Generated by Electrofusion Simultaneously Present Immunodominant Epitopes from Multiple Human Tumor-Associated Antigens in the Context of MHC Class I and Class II Molecules. *J Immunol* 2003;170: 5317-5325.

Orentas R, et al. Electrofusion of a Weakly Immunogenic Neuroblastoma with Dendritic Cells Produces a Tumor Vaccine. *Cell Immunol* 2001;213: 4-13.