

# GeticoFect IC 昆虫细胞转染试剂使用说明书

## 产品介绍

本产品专门针对昆虫细胞的转染而开发的转染试剂，具有高转染效率，低细胞毒性的特点和优势。

## 预估实验步骤时间

实验步骤	时间
细胞制备	0-60分钟
稀释转染试剂的孵育	5分钟
DNA-转染试剂混合物的孵育	5分钟
转染后细胞孵育	72-96小时

使用Bac-to-Bac杆状病毒表达系统，用GeticoFect IC转染试剂对ExpiSf9, Sf9和Sf21细胞进行基于悬浮液的转染

使用以下程序以125 mL摇瓶形式转染 ExpiSf9、Sf9 和 Sf21 悬浮细胞培养物。

### 1. 准备细胞和培养基

2. 在转染时，在25mL生长培养基（ExpiSf CD培养基在125mL非挡板，通风的摇瓶中）中稀释至 $2.5 \times 10^6$ 个细胞/mL（ $\geq 90\%$ 细胞活力）。

1. 将 $62.5 \times 10^6$ 个活细胞移液到无菌的50mL锥形管中。
2. 以 $300 \times g$ 离心5分钟。
3. 吸出上清液，将细胞轻轻重悬于25mL新鲜生长培养基中。
4. 将整个细胞悬浮液转移到125 mL摇瓶中。

3. 将细胞在27°C非湿润，非二氧化碳培养箱中孵育0-30分钟，其轨道振荡器平台设置为 $125 \pm 5$ rpm（对于振荡直径为19mm或25mm的振荡器）或 $95 \pm 5$ rpm（对于振荡直径为50mm的振荡器）。

注意：重要的是在细胞接种后30分钟内继续步骤2。在转染前孵育细胞超过30分钟可能导致转染效率降低。

### 2. 配置转染试剂

3. 使用前，通过倒置5-10次，轻轻混合GeticoFect IC昆虫细胞转染试剂。
4. 将30  $\mu$ L GeticoFect IC昆虫细胞转染试剂稀释在1mL Opti-MEM培养基中。
5. 倒置5-10次，轻轻混合。

d. 将混合物在室温下孵育5分钟。

### 3. 将Bacmid DNA到转染试剂

- 将12.5  $\mu\text{g}$ 的Bacmid DNA加入到转染试剂中
- 轻轻颠倒混匀5-10次
- 室温孵育5分钟

### 4. 转染细胞

- 将混合物缓慢滴滴转移到步骤1中制备的125mL摇瓶中，在添加过程中旋转烧瓶以确保均匀混合。
- 将细胞在27° C非湿润，无CO2培养箱中孵育在125  $\pm$  5rpm（对于振荡直径为19mm或25mm的振荡器）或者95  $\pm$  5rpm（对于振荡直径为50mm的振荡器），直到看到明显的细胞感染（大概72-96小时）。

### 附录：转染试剂体积计算

参数	培养类型			
	悬浮细胞			
容器类型	深孔板	摇瓶		
容器尺寸	24孔	125 ml	250 ml	500 ml
所需细胞数量	10 $\times$ 10 <sup>6</sup> 个细胞	62.5 $\times$ 10 <sup>6</sup> 个细胞	125 $\times$ 10 <sup>6</sup> 个细胞	250 $\times$ 10 <sup>6</sup> 个细胞
转染培养体积	4 ml/孔	25 ml	50 ml	100 ml
转速	250 $\pm$ 5 rpm (19mm直径)	125 $\pm$ 5 rpm (19 mm直径) 125 $\pm$ 5 rpm (25 mm直径) 95 $\pm$ 5 rpm (50 mm 直径)		
Bacmid DNA	1 $\mu\text{g}$	12.5 $\mu\text{g}$	25 $\mu\text{g}$	50 $\mu\text{g}$
GeticoFect IC转染试剂体积	5 $\mu\text{L}$	30 $\mu\text{L}$	60 $\mu\text{L}$	120 $\mu\text{L}$
Opti-MEM减血清培养基体积	250 $\mu\text{L}$	1 ml	2 ml	4 ml
Bacmid DNA 体积	2-4 $\mu\text{L}$	25-50 $\mu\text{L}$	50-100 $\mu\text{L}$	100-200 $\mu\text{L}$