， 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2.5×10e6个细胞/mL（≥90%细胞活力）。

. 将62.5×10e6个活细胞移液到无菌的50mL锥形管中。

. 以300×*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。

. 将整个细胞悬浮液转移到125 mL摇瓶中。

3.将细胞在27℃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±5rpm（对于振荡直径为19mm或25mm的振荡器）或95±5rpm（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。

. 配置转染试剂

3. 使用前，通过倒置5-10次，轻轻混合 c c ，647E试剂 。

. 将30μL c c IC 试剂稀释在1mL Opti-MEM培养基中。

. 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

a. 将12.5μg的Bacmid DNA加入到转染试剂中

b. 轻轻颠倒混匀5-10次

c. 室温孵育5分钟

4. 转染细胞

a. 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。

b. 将细胞在27° C非湿润，无CO2培养箱中孵育在125±5rpm（对于振荡直径为19mm或25mm的振荡器）或者95±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	10×10^6 个细胞	62.5×10^6 个细胞	125×10^6 个细胞	250×10^6 个细胞
转染培养体积	4 ml/孔	25 ml	50 ml	100 ml
转速	250 ± 5 rpm （19mm直径）	125 ± 5 rpm （19 mm直径） 125 ± 5 rpm （25 mm直径） 95 ± 5 rpm （50 mm 直径）		
Bacmid DNA	1 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg
GeticoFect IC转染试剂体积	5 μL	30 μL	60 μL	120 μL
Opti-MEM减血清培养基体积	250 μL	1 ml	2 ml	4 ml
Bacmid DNA 体积	2-4 μL	25-50 μL	50-100 μL	100-200 μL