

**GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂**

# 产品说明书

## 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	20-60 分钟
稀释转染试剂	5 分钟
DNA-转染试剂混合物的配置	5 分钟
转染后细胞孵育	72-96 小时

A. 使用以下程序，以 125mL 摇瓶形式转染 Expi-Sf9、Sf9 和 Sf21 悬浮细胞。

### A1. 准备细胞和培养基

1.1 在转染前，按照以下步骤，在 25mL 生长培养基（昆虫细胞专用培养基，在 125mL 非挡板、通风的摇瓶中）中，将待转染的细胞稀释至  $2.5 \times 10^6$  个细胞/mL（ $\geq 90\%$  细胞活力）的细胞密度。

1) 将  $62.5 \times 10^6$  个活细胞转移到无菌的 50mL 锥形管中，并放置到离心机中。

2) 以  $300 \times g$ ，室温离心 5 分钟。

3) 缓慢吸去上清液，将细胞轻轻重悬于 25mL 新鲜培养基中。

4) 将全部细胞悬浮液转移到 125mL 摇瓶中。

1.2 将上步细胞放置在  $27^\circ\text{C}$  非湿润、非二氧化碳培养箱中孵育 20-30 分钟，其摇床转速设置为  $125 \pm 5\text{rpm}$ （对于振荡直径为 19mm 或 25mm 的振荡器）或  $95 \pm 5\text{rpm}$ （对于振荡直径为 50mm 的振荡器）。

备注：在转染前孵育细胞超过 30 分钟可能导致转染效率降低。

#### **A2. 配置转染试剂**

2.1 使用前，轻轻颠倒混匀 GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂。

2.2 将 30  $\mu$ L GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂添加到 1mL Opti-MEM 培养基中。

2.3 轻轻颠倒混匀 5-10 次。

2.4 将混合物在室温下孵育 5 分钟。

#### **A3. 将 Bacmid DNA 添加到转染试剂中**

3.1 将 12.5  $\mu$ g 的 Bacmid DNA 添加到上步配置好的转染试剂中

3.2 轻轻颠倒混匀 5-10 次

3.3 室温孵育 5 分钟

#### **A4. 转染细胞**

4.1 将上步的混合物缓慢添加到步骤 1 准备好的 125mL 摇瓶中，在添加过程中缓慢旋转烧瓶，以确保均匀混合。

4.2 将细胞培养瓶放置到 27° C 非湿润、无 CO<sub>2</sub> 培养箱中，摇床转速设置为 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），培养 72-96 小时，然后可以立即进行后续检测和相关实验。

备注：GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂，是一种低毒性的转染试剂，在转染后无需换液处理。

B. 使用以下程序，以 6 孔板形式转染 Expi-Sf9、Sf9 和 Sf21 贴壁细胞。

### ***B1. 准备细胞和培养基***

1.1 在转染前，在完全培养基中，将待转染细胞培养至  $1 \times 10^6$  个细胞/孔（细胞活力  $\geq 90\%$ ，6 孔板，3ml 培养基/孔）。

1.2 将上步细胞放置在 27°C 非湿润、非二氧化碳培养箱中孵育 30-60 分钟。

备注：在转染前孵育细胞超过 60 分钟可能导致转染效率降低。

### ***B2. 配置转染试剂***

2.1 使用前，轻轻颠倒混匀 GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂。

2.2 将 10  $\mu$ L GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂添加到 250  $\mu$ l 的 Opti-MEM 培养基中。

2.3 轻轻颠倒混匀 5-10 次。

2.4 将混合物在室温下孵育 5 分钟。

### ***B3. 将 Bacmid DNA 添加到转染试剂中***

3.1 将 1  $\mu$ g 的 Bacmid DNA 添加到上步配置好的转染试剂中

3.2 轻轻颠倒混匀 5-10 次

3.3 室温孵育 5 分钟

### ***B4. 转染细胞***

4.1 将上步的混合物缓慢添加到步骤 1 准备好的细胞中，在添加过程中缓慢摇晃 6 孔板，以确保均匀混合。

4.2 将细胞培养瓶放置到 27° C 非湿润、无 CO2 培养箱中，培养 72-96 小时，然后可以立即进行后续检测和相关实验。

备注：GeticoFect™ IC 昆虫细胞转染试剂，是一种低毒性的转染试剂，在转染后无需换液处理。

### 附录：细胞转染计算表

参数	细胞培养类型			
	悬浮细胞			
容器类型	深孔板	摇瓶		
容器尺寸	24孔	125ml	250ml	500ml
所需细胞数量	$10 \times 10^6$ 个细胞	$62.5 \times 10^6$ 个细胞	$125 \times 10^6$ 个细胞	$250 \times 10^6$ 个细胞
转染培养体积	4ml/孔	25ml	50ml	100ml
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用量	1 $\mu$ g	12.5 $\mu$ g	25 $\mu$ g	50 $\mu$ g
GeticoFect™ IC转染试剂用量	5 $\mu$ L	30 $\mu$ L	60 $\mu$ L	120 $\mu$ L
Opti-MEM减血清培养基用量	250 $\mu$ L	1ml	2ml	4ml
Bacmid DNA体积	2-4 $\mu$ L	25-50 $\mu$ L	50-100 $\mu$ L	100-200 $\mu$ L