GeticoFect™ 293 Transfection Kit

产品说明书

产品介绍

GeticoFect™ 293 转染试剂盒是一种专门针对 293 细胞转染开发的产品，其设计用于 HEK（人胚肾）293 细胞高密度培养的瞬时转染。这种高效的转染试剂和转染增强剂设计用于最大程度提高 293F 细胞中的蛋白表达水平。

- 使用专用的，可以提高转染性能和蛋白表达的转染增强剂。
- 蛋白得率是其他转染试剂的 2 至 20 倍。
- 使用和低密度 293 培养系统的相同瞬时表达方案，以易于从低密度系统转为高产量、高密度 293 表达系统。
- 提供稳健和可重现的转染结果，让用户对他们的结果更有信心。
- 培养体积可以从 1mL-1000L，同时能保持相同的蛋白得率。

该转染试剂盒由阳离子纳米 GeticoFect™ 293 转染试剂和 GeticoFect™ 293 转染增强剂 1 和 2 组成。增强剂在转染后 15 至 16 小时添加，用于增强转染、提高细胞活性和促进蛋白表达。

订购信息

货号	规格	组分	体积
182601	1L	GeticoFect™ 293kit 转染试剂	2.7ml
		GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 1	5ml
182602	10L	GeticoFect™ 293kit 转染试剂	27ml
		GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 1	50ml
182603	50L	GeticoFect™ 293kit 转染试剂	5 X 27ml
		GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 1	5 X 5ml

产品内容

GeticoFect™ 293 转染试剂

GeticoFect™ 293 转染试剂针对将质粒 DNA 转染到高密度 293F 细胞进行了特殊开发和优化。

GeticoFect™ 293 转染试剂有这以下特征：

- 专为高密度悬浮细胞培养的转染而设计，配有配套的转染增强剂，可提高转染性能和蛋白质表达量。
- 与高密度 293 细胞培养中使用的其他转染试剂相比，蛋白质产量高出 2 至 20 倍。
- 采用通用性瞬时表达方案，可轻松从低密度系统切换到高产量、高密度的 293 表达系统。
- 提供高质量的和可重复转染结果。
- 可实现培养体积从小于 1 毫升到大于 10 升的可扩展转染规格，同时可以保证同等的蛋白质产量。

GeticoFect™ 293 转染增强剂 1

GeticoFect™ 293 转染增强剂 1 是一种优化的、化学成分明确的、无血清、无蛋白质、无动物来源的配方，旨在与 293 转染试剂配合使用，提高瞬时转染效率。

GeticoFect™ 293 转染增强剂 2

GeticoFect™ 293 转染增强剂 2 是无动物源的产品，与 293 转染试剂配合使用可增强蛋白质生产，从而实现最大蛋白质产量。

操作步骤

- 使用前轻轻颠倒 GeticoFect™ 293 转染试剂 4－5 次，确保彻底混匀。
- 质粒 DNA 和 GeticoFect ™ 293 转染试剂使用前需要放置于室温 30 分钟左右。
- 孵育 GeticoFect™ 293/DNA 复合物孵 10-20 分钟后再加入细胞。孵育时间过长可能会导致性能略有下降。
- 对于 293F 诱导细胞，加入杀稻瘟素不会影响转染，因此，在转染之前无需去除杀稻瘟素。

Day -2：原始细胞的准备

准备并培养 293F 细胞，至细胞密度为 3-5×10^6个活细胞/mL

Day -1：种子细胞的培养

将上步的 293F 细胞接种并达到密度为 2.5-3×10^6个细胞/mL，然后继续让细胞生长过夜。

Day 0：细胞的转染

1. 确定细胞密度以及活力。

在准备进行转染时，确保活细胞密度和活力应分别为 4.5-5.5×10^6个活细胞/mL 和≥95%。

2. 使用新鲜、预热的 293 表达培养基将细胞稀释至最终密度为 3×10^6个/ml，然后轻轻旋转培养瓶以混合细胞。

3. 轻轻颠倒 4－5 次，确保充分混合。

4. 使用 Opti-MEM I 稀释质粒 DNA，然后通过旋转或颠倒进行混匀。

备注：对于大多数基因，建议的质粒终浓度为 1.0μg/mL。

5. 使用 Opti-MEM I 稀释 GeticoFect™ 293 转染试剂，然后通过旋转或颠倒进行混匀。

6. 室温孵育 5 分钟。

7. 将稀释好的 GeticoFect™ 293 转染试剂添加到稀释好的质粒 DNA 中，然后进行旋转或颠倒混匀。

8. 室温孵育 10-20 分钟。

9. 将转染试剂复合物缓慢转移到细胞中，添加时轻轻旋转培养瓶，然后在 37℃培养箱中、相对湿度≥80% 和 CO_2 浓度为 8%的振荡器上培养细胞（摇床转速见附件）。

Day +1： 添加转染增强剂

1. 转染后 18-22 小时，轻轻地添加 GeticoFect™ 293 转染增强剂 1 和 GeticoFect™ 293 转染增强剂 2 到上步的细胞中。

备注：GeticoFect™ 293 转染增强剂 1 和 GeticoFect™ 293 转染增强剂 2 可以在添加之前先混合在一起。

Day +5：蛋白质的收获

最佳的时间和蛋白的性质有关。

- 对于许多分泌蛋白来说，转染后 5-7 天是达到最大得率的建议收获时间。
- 对于膜蛋白和细胞内蛋白， 3 - 4 天是一个建议的最佳收获时间。

附录 1：转染试剂用量计算表格

培养容器类型	96 深孔板	24 深孔板	微型生物反应器	125ml 培养瓶	250ml 培养瓶	1L 培养瓶	2L 培养瓶	3L 培养瓶
细胞量	2.0×10^6	7.5×10^6	45×10^6	75×10^6	150×10^6	600×10^6	1.2×10^9	2.25×10^9
细胞培养体积	800μL	2.5ml	15ml	25ml	50ml	200ml	400ml	800ml
摇床转速(转/分)	900±50	225±5 250±5 235±5	240±5 250±5 245±5	125±5（19mm的轨道直径） 120±5(25mm的轨道直径） 95±5(50mm的轨道直径）				90±5 90±5 55±5
质粒DNA的用量	1μg/ml的终浓度(以培养基体积计算)							
质粒DNA体积	0.8μl	2.5μl	15μl	25μl	50μl	200μl	400μl	800μl
Opti-MEMI培养基	50μl	150μl	900μl	1.5ml	3ml	12ml	24ml	48ml
GeticoFect™293转染试剂	2.5μl	8μl	50μl	80μl	160μl	640μl	1.3ml	2.6ml
Opti-MEMI培养基	50μl	140μl	850μl	1.4ml	2.8ml	11.2ml	22.5ml	45ml
GeticoFect™293转染增强剂1	5μl	15μl	90μl	150μl	300μl	1.2ml	2.4ml	4.8ml
GeticoFect™293转染增强剂2	50μl	150μl	900μl	1.5μl	3ml	12ml	24ml	48ml
最终的培养基体积	~1mL	~3ml	~20ml	~30ml	~60ml	~40ml	~480ml	~960ml