

# **GeticoFect™ CHO Transfection Kit**

## **产品说明书**

**订购信息**

货号	规格	组分	体积
131801	1L	GeticoFect™ CHO 转染试剂	3.2ml
		GeticoFect™ CHO 转染增强剂	6ml
131802	10L	GeticoFect™ CHO 转染试剂	32ml
		GeticoFect™ CHO 转染增强剂	60ml
131803	50L	GeticoFect™ CHO 转染试剂	5X 32ml
		GeticoFect™ CHO 转染增强剂	5X 60ml

## 操作步骤

### 转染指导方针

为了实现更多的灵活性，CHO 表达系统提供了三种不同的表达方案

- **标准方案：**在转染 1 天后，添加 GeticoFect™ CHO 增强剂后的细胞培养温度为 37℃。
- **高滴度方案：**在转染 1 天后，添加 GeticoFect™ CHO 增强剂后的细胞培养温度为 32℃。
- **最大滴度方案：**在转染 1 天后，添加 GeticoFect™ CHO 增强剂后的细胞培养温度为 32℃。

### 转染 GeticoFect™ CHO-S 细胞

在所有细胞操作过程中，轻轻旋转混合细胞；避免剧烈混合/移液。细胞的活性和健康是实验的关键。

1. 传代培养 GeticoFect™ CHO-S 细胞，直至细胞密度达到大约  $4 \times 10^6 - 6 \times 10^6$  细胞/mL。

#### Day - 1: 细胞的预处理

2. 转染前一天，将 GeticoFect CHO-S 细胞稀释到终密度为  $3 \times 10^6 - 4 \times 10^6$  个活细胞/mL，并让细胞继续生长过夜。

#### Day - 0: 转染细胞

3. 第二天（第 0 天），先检测并确定活细胞密度和细胞活性，细胞密度大约为  $7 \times 10^6 - 10 \times 10^6$  个活细胞/mL 左右，细胞活性在 95 - 99% 左右，才能继续后续转染。

4. 将步骤 2 中的细胞稀释至最终密度为  $6 \times 10^6$  个活细胞/mL 加入新鲜的预热至 37°C 的 CHO 表达培养基，旋转培养瓶 轻轻地混合。

5. 预先混合好 GeticoFect™ CHO 转染/质粒 DNA 复合物并放置在 4°C，按照以下步骤进行混合操作。

a) 轻轻地颠倒混匀 GeticoFect™ CHO 转染试剂 4 - 5 次。

b) 用放置于 4°C 的 OptiPRO 培养基稀释配置质粒 DNA，并颠倒混匀。

用放置于 4°C 的 OptiPRO 培养基稀释配置 GeticoFect™ CHO 转染试剂。颠倒混匀。

c) 将上步混合稀释好的 GeticoFect™ CHO 转染试剂添加到稀释好的质粒 DNA 中，颠倒混匀。

6. 将上步配置好的 GeticoFect™ CHO 转染试剂/质粒 DNA 复合物，在室温放置 1-5 分钟，然后将混合溶液缓慢转移步骤 4 的细胞中，轻轻摇晃混匀。

7. 将培养瓶放置到摇床中，8% 的二氧化碳浓度，37°C 培养，摇床的速度见附件表格。

#### **Day 1: 添加 GeticoFect™ CHO 转染试剂。**

在转染 1 天后（18 - 22 小时），按照以下不同的方案选择一个添加试剂。

- 标准方案：根据用量（见附件表格）添加合适量的 GeticoFect™ CHO 增强剂到培养瓶中，轻轻旋转培养瓶，将培养瓶放回 37°C 培养箱，8% 二氧化碳继续培养。
- 高滴度方案：根据用量（见附件表格）添加合适量的 GeticoFect™ CHO 增强剂到培养瓶中，轻轻旋转培养瓶，将培养瓶放回 32°C 培养箱，5% 二氧化碳继续培养。
- 最大滴度方案：根据用量（见附件表格）添加合适量的 GeticoFect™ CHO 增强剂到培养瓶中，轻轻旋转培养瓶，将培养瓶放回到 37°C 培养箱，5% 二氧化碳继续培养。

- 最大滴度方案：根据用量(见附件表格)添加合适量的 GeticoFect™ CHO 增强剂到培养瓶中，轻轻旋转培养瓶，将培养瓶放回到 37℃ 培养箱，5% 二氧化碳继续培养。

#### 收货蛋白

- 标准转染方案：转染后 8 - 10 天
- 高滴度转染方案：转染后 10 - 12 天
- 最大滴度转染方案：转染后 12 - 14 天

## 细胞培养计算表

培养瓶体积	125mL	250mL	500mL	1L	2L	3L
细胞数量	$1.5 \times 10^8$	$3.0 \times 10^8$	$6.0 \times 10^8$	$1.2 \times 10^9$	$2.4 \times 10^9$	$4.5 \times 10^9$
转染的培养体积	25mL	50mL	100mL	200mL	400mL	750mL
摇床速度 (转/分)	125±5 (19mm震荡直径) 120±5 (25mm震荡直径) 95±5 (50mm震荡直径)					75±5 80±5 80±5
培养瓶类型	带隔板的通气培养瓶					
DNA用量	终浓度为0.5 - 1.0ug/ml的培养体积					
质粒DNA的体积	20μL	40μL	80μL	160μL	320μL	600μL
用于稀释质粒的 OptiPRO SFM培养基	1mL	2mL	4mL	8mL	16mL	30mL
GeticoFect™ CHO 转染试剂	80μL	160μL	320μL	640μL	1280μL	2400μL
用于稀释转染试剂 的OptiPRO SFM培养基	920μL	1.84mL	3.7mL	7.4mL	14.8mL	28mL
GeticoFect CHO™增 强剂	150μL	300μL	600μL	1200μL	2400μL	4500μL
最终的培养体积	~35mL	~70mL	~140mL	~280mL	~560mL	~1L