



# **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     |
|        |     | GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 2 | 50ml    |
| 182602 | 10L | GeticoFect™ 293kit 转染试剂    | 27ml    |
|        |     | GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 1 | 50ml    |
|        |     | GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 2 | 500ml   |
| 182603 | 50L | GeticoFect™ 293kit 转染试剂    | 5X27ml  |
|        |     | GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 1 | 5X5ml   |
|        |     | GeticoFect™ 293Kit 转染增强剂 2 | 5X500ml |

## 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  $3-5 \times 10^6$  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  $2.5-3 \times 10^6$  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  $4.5-5.5 \times 10^6$  个活细胞/mL 和  $\geq 95\%$ 。

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  $3 \times 10^6$  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  $1.0 \mu\text{g/mL}$ 。

---

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°C 培养箱中、相对湿度  $\geq 80\%$  和 CO<sub>2</sub> 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<br>反应器                               | 125ml<br>培养瓶   | 250ml<br>培养瓶      | 1L 培养瓶            | 2L 培养瓶                                 | 3L 培养瓶             |
|--------------------------|----------------------------|---|---|--|-------------------|-------------------|--|--------------------|
| 细胞量                      | $2.0 \times 10^6$          | $7.5 \times 10^6$                         | $45 \times 10^6$                          | $75 \times 10^6$   | $150 \times 10^6$ | $600 \times 10^6$ | $1.2 \times 10^9$                      | $2.25 \times 10^9$ |
| 细胞培养体积                   | 800 $\mu$ L                | 2.5ml                                     | 15ml                                      | 25ml   | 50ml              | 200ml             | 400ml                                  | 800ml              |
| 摇床转速(转/分)                | 900 $\pm$ 50               | 225 $\pm$ 5<br>250 $\pm$ 5<br>235 $\pm$ 5 | 240 $\pm$ 5<br>250 $\pm$ 5<br>245 $\pm$ 5 | 125 $\pm$ 5 (19mm的轨道直径)<br>120 $\pm$ 5 (25mm的轨道直径)<br>95 $\pm$ 5 (50mm的轨道直径) |                   |                   | 90 $\pm$ 5<br>90 $\pm$ 5<br>55 $\pm$ 5 |                    |
| 质粒DNA的用量                 | 1 $\mu$ g/ml的终浓度(以培养基体积计算) |   |   |  |                   |                   |  |                    |
| 质粒DNA体积                  | 0.8 $\mu$ l                | 2.5 $\mu$ l                               | 15 $\mu$ l                                | 25 $\mu$ l   | 50 $\mu$ l        | 200 $\mu$ l       | 400 $\mu$ l                            | 800 $\mu$ l        |
| Opti-MEMI培养基             | 50 $\mu$ l                 | 150 $\mu$ l                               | 900 $\mu$ l                               | 1.5ml  | 3ml               | 12ml              | 24ml                                   | 48ml               |
| GeticoFect™293<br>转染试剂   | 2.5 $\mu$ l                | 8 $\mu$ l                                 | 50 $\mu$ l                                | 80 $\mu$ l   | 160 $\mu$ l       | 640 $\mu$ l       | 1.3ml                                  | 2.6ml              |
| Opti-MEMI培养基             | 50 $\mu$ l                 | 140 $\mu$ l                               | 850 $\mu$ l                               | 1.4ml  | 2.8ml             | 11.2ml            | 22.5ml                                 | 45ml               |
| GeticoFect™293<br>转染增强剂1 | 5 $\mu$ l                  | 15 $\mu$ l                                | 90 $\mu$ l                                | 150 $\mu$ l  | 300 $\mu$ l       | 1.2ml             | 2.4ml                                  | 4.8ml              |
| GeticoFect™293<br>转染增强剂2 | 50 $\mu$ l                 | 150 $\mu$ l                               | 900 $\mu$ l                               | 1.5 $\mu$ l  | 3ml               | 12ml              | 24ml                                   | 48ml               |
| 最终的培养基体<br>积             | ~1mL                       | ~3ml                                      | ~20ml                                     | ~30ml  | ~60ml             | ~40ml             | ~480ml                                 | ~960ml             |