



GeticoFect™ 3000plus 转染 293 悬浮细胞说明书

一、产品概述

GeticoFect™ 3000plus 试剂是一种阳离子脂质体转染试剂，专为将 DNA 转染至真核细胞而设计，尤其适用于在无血清培养基中对 293 悬浮细胞进行转染，助力高效基因导入与表达研究。

二、产品组成与储存

1. 产品组成：包含 GeticoFect™ 3000plus 转染试剂、T3000 辅助试剂，具体规格有多种包装可选。

2. 储存条件：4°C 保存，切勿冷冻，以维持试剂活性。

三、实验准备

1. 实验材料：高纯度质粒 DNA（需确保无酚、无氯化钠等污染物，推荐使用特定试剂盒提取，如 HiPure Plasmid Kits）、293 悬浮细胞（如 293 - F 细胞）、293 表达培养基、Opti - MEM® 减血清培养基、125 - mL 聚碳酸酯透气盖锥形摇瓶、涡旋振荡器、细胞计数仪、台盼蓝染液、CO₂ 培养箱（控温 37°C、湿度适宜、8% CO₂）、恒温摇床（125 rpm）。

2. 实验前准备工作：实验前，将 293 表达培养基、Opti - MEM® 减血清培养基预热至室温，保证实验操作在无菌环境下进行。

四、转染操作步骤

（一）细胞准备

1. 细胞培养与扩增：依据细胞倍增时间，对 293 悬浮细胞进行扩增培养，维持细胞对数生长状态。以 293 - F 细胞为例，传代时细胞密度控制在 $6 - 7 \times 10^5$ cells/mL。

2. 细胞计数与活力检测：取少量细胞悬液，采用台盼蓝拒染法，借助细胞计数仪或血球计数板进行细胞计数与活力检测，确保细胞活力大于 90%。若有细胞团块，可剧烈涡旋 10 - 45 秒，制成单细胞悬液。

3. 细胞接种：计算所需细胞悬液体积，使每 30 mL 转染体系中含有 3×10^7 个细胞，将细胞接种于 125 mL 锥形摇瓶，加入预温的 293 表达培养基至 28 mL。

（二）转染复合物制备（以 30 mL 转染体系为例）



1. DNA 稀释：在无菌离心管中，用 Opti - MEM 减血清培养基将 30 μg 质粒 DNA 稀释至总体积 1 mL，轻柔混匀。

2. GeticoFect™ 3000plus 与 T3000 试剂稀释：另取无菌离心管，将 60 μL GeticoFect 3000plus 试剂与适量 T3000 辅助试剂（按产品推荐比例）加入 Opti - MEM 减血清培养基，稀释至总体积 1 mL，轻柔混匀后室温孵育 5 分钟，孵育时间超过 5 分钟可能降低转染活性。

3. 混合孵育：5 分钟孵育结束后，将稀释好的 DNA 溶液加入含 GeticoFect™ 3000plus 与 T3000 试剂的溶液中，总体积达到 2 mL，轻柔混匀，室温孵育 20 - 30 分钟，促使 DNA - 转染试剂复合物充分形成。

（三）转染与培养

1. 转染操作：将制备好的 2 mL 转染复合物逐滴加入含细胞的摇瓶中，轻轻摇匀，使转染复合物与细胞充分接触，此时摇瓶内总体积为 30 mL，细胞终密度约为 1×10^6 viable cells/mL。

2. 设立对照：设置阴性对照组，向对应摇瓶中加入 2 mL Opti-MEM 减血清培养基替代转染复合物。

3. 细胞培养：将摇瓶置于 37°C、8% CO₂、125 rpm 的恒温摇床中孵育培养。

（四）结果检测

1. 蛋白表达检测：转染后 2 - 7 天，依据重组蛋白特性选择检测方法。若蛋白分泌到培养基中，收集培养基检测；若蛋白在细胞内表达，则收集细胞进行检测，如采用 Western Blot、ELISA 等技术分析蛋白表达情况。

2. 优化表达：由于重组蛋白性质差异，表达水平有所不同。可进行时间进程实验，在转染后不同时间点收获细胞或培养基，优化蛋白表达条件。

五、注意事项

1. 实验全程需严格无菌操作，防止微生物污染导致实验失败。

2. 确保质粒 DNA 质量，污染物会损害细胞、干扰复合物形成并降低转染效率。

3. 各试剂稀释和混合过程动作要轻柔，避免产生气泡影响转染效果。

4. 严格按照推荐条件进行转染，如需调整体系，应先进行预实验摸索最佳参数。

5. 产品仅用于科研，不可用于诊断或临床治疗等用途。