# 原代T细胞核酸转染试剂（Gentle T30）

**使用说明书 Version 2.1**

## 01/产品概述

基于多肽的核酸递送技术能够显著提升各类细胞，包括原代细胞、难转细胞系的核酸转染[1][2]。金简达生物通过高通量多肽筛选，开发了针对原代T细胞的Gentle T30原代T细胞核酸转染试剂。GentleFect®多肽通过液-液相分离自组装形成纳米级微滴，经胞饮作用高效内化，在维持细胞活性的同时，大幅提升原代T细胞核酸递送效率。

## 02/产品信息

| 货号 | 产品名称 | 规格（单组分） |
|---|---|---|
| **1030004** | Gentle T30 原代T细胞核酸转染试剂 | 7.5 mL |
| **1030005** | Gentle T30 原代T细胞核酸转染试剂 | 30 mL |
| **1030006** | Gentle T30 原代T细胞核酸转染试剂 | 100 mL |

## 03/产品保存

4℃保存6个月，-20℃保存1年。短期4℃保存，建议分装，避免反复冻融。

## 04/转染体系

**表1. mRNA/siRNA转染体系推荐**

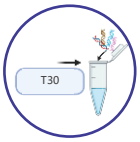
| 孔板规格 | 试剂用量 (μL/well) | mRNA (μg/well) | siRNA(μL/well) (初始浓度 20 μM) | 细胞悬液 (μL/well) | 悬浮细胞 细胞数量 (cells/well) |
|---|---|---|---|---|---|
| **96孔** | 40 | 0.5-1 | 2 | 20 | $1 \times 10^5$ |
| **48孔** | 80 | 1-2 | 4 | 40 | $2 \times 10^5$ |
| **24孔** | 200 | 2.5-5 | 10 | 100 | $5 \times 10^5$ |
| **12孔** | 500 | 7.5-15 | 30 | 250 | $1.25 \times 10^6$ |
| **6孔** | 800 | 10-20 | 40 | 400 | $2 \times 10^6$ |

**-Note：**本表仅供参考，具体用量可根据细胞类型适当调整。

## 05/实验步骤

### 实验前准备

分选后激活的2-8天原代T细胞，确保细胞活率＞90%，无菌无酶离心管、完全培养基、Opti-MEM培养基、核酸转染试剂（恢复至室温），待转染核酸放于冰上。




**1 配制转染混合液**

按表1比例在离心管中加入转染试剂和对应量核酸，温和吹打30-60 s，室温静置3 min以上。



**2 细胞样品准备**

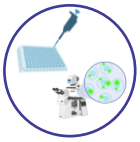
取待转染细胞，离心弃去上清，用Opti-MEM清洗重悬细胞，再次离心，Opti-MEM重悬细胞，调整细胞密度至5 × $10^6$ cells/mL。

**-Note：**需避免FBS或其他蛋白影响实验结果；无Opti-MEM时，可以使用MEM等无蛋白培养基替代



**3 细胞转染**

按照表1将细胞悬液加入到转染混合液中混合，温和吹打混匀，37℃培养箱孵育20-40 min。孵育时间可根据细胞类型进行调整，建议勿超过1 h，以免造成细胞损伤。



**4 终止转染**

加入混合液2倍体积以上的完全培养基终止转染，离心弃上清。重悬细胞，加入到细胞培养板中，继续培养。在转染后的12-48 h内检测目的基因表达。

## 06/注意事项

- 注意细胞的清洗，避免因FBS或其他蛋白影响实验结果；
- 转染试剂与细胞的孵育时间可根据细胞状态调整，但不建议超过1 h，孵育时间过长易造成细胞损伤；
- 在悬浮转染中，转染复合物与细胞孵育时，转染试剂的用量：细胞悬液体积=2:1；
- 多个核酸共转染时，每孔转入的核酸量为核酸的总和，如96孔板体系每孔应转入0.5-1 μg核酸，则加入的核酸总量为0.5-1 μg。

## 07/常见问题及解答

- **原代T细胞可以转染质粒DNA吗?**

  不可以，原代T细胞因自身独特的免疫特性，其细胞内的cGAS-STING信号通路对外源双链DNA较为敏感，不仅引发细胞周期阻滞，还会通过内源性凋亡途径导致细胞死亡，常规转染条件下，其细胞活率和阳性率会显著降低。

- **可以直接用无血清培养基替代Opti-MEM进行转染吗?**

  不建议使用，因为部分无血清培养基可能仍含有特定的蛋白质组分，会影响转染效果。

- **做转染实验时，对核酸纯度有要求吗?**

  一般商业化mRNA和siRNA合成纯度较高，均可以直接使用；实验室质粒提取时，推荐使用无内毒试剂盒进行质粒DNA提取，并确保A260/A280值在1.8-2.0之间，推荐使用纯水洗脱质粒DNA，调整DNA浓度至0.3-3 μg/μL。

- **哪些实验操作会影响转染效率?**

  ①实验前调整细胞状态，保持细胞形态正常，细胞活率大于90%；

  ②细胞转染孵育时请勿使用含FBS的培养基，FBS会严重影响细胞转染效果；

  ③Gentle系列转染试剂不建议剧烈涡旋，推荐使用移液器温和吹打混匀；

  ④不同物种的T细胞衰老速度不同，建议在激活后的2-4天内转染，防止因细胞衰老导致转染效率的下降。

**参考文献**

【1】Sun, Y., Wu, X ., Li, J. *et al.* Phase-separating peptide coacervates with programmable material properties for universal intracellular delivery of macromolecules. *Nat Commun* 15, 10094 (2024).

【2】Sun, Y., Lau, S.Y., Lim, Z.W. *et al.* Phase-separating peptides for direct cytosolic delivery and redo× -activated release of macromolecular therapeutics. *Nat. Chem.* 14, 274–283 (2022).

**本产品仅限于专业人员的科学研究使用**

**如果在实验过程中遇到任何问题，可通过邮箱及电话获取我们的技术支持，同时也真诚地欢迎大家对本试剂产品提出宝贵的建议！**

**E-mail：sales@genda-bio.com**
**Tel：+86 19357360203**

关注公众号
获取产品信息

关注小红书
获取最新动态

添加技术支持
获取专业知识