原代NK细胞核酸转染试剂（Gentle NK30）

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NK细胞的Gentle NK30原代NK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NK细胞核酸递送效率。

02/产品信息

货号	产品名称	规格（单组分）
1040004	Gentle NK30 原代NK细胞核酸转染试剂	7.5 mL
1040005	Gentle NK30 原代NK细胞核酸转染试剂	30 mL
1040006	Gentle NK30 原代NK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

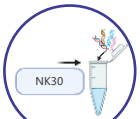
孔板规格	试剂用量 (μL/well)	mRNA (μg/well)	siRNA(μL/well) (初始浓度 20 μM)	细胞悬液 (μL/well)	悬浮细胞 细胞数量 (cells/well)
96孔	40	0.5-1	2	20	1×10^5
48孔	80	1-2	4	40	2×10^5
24孔	200	2.5-5	10	100	5×10^5
12孔	500	7.5-15	30	250	1.25×10^6
6孔	800	10-20	40	400	2×10^6

-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NK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

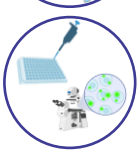
取待转染细胞，离心弃去上清，用Opti-MEM清洗重悬细胞，再次离心，Opti-MEM重悬细胞，调整细胞密度至5 × 10^6 cells/mL。

-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

- **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；

  ④NK细胞建议在激活后的2-5天内进行转染，会获得较高的转染效率。

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