全能原代细胞核酸转染试剂（Gentle AP30）

使用说明书 Version 2.0

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，开发了针对原代细胞的Gentle AP30全能原代细胞核酸转染试剂。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，大幅提升原代细胞核酸递送效率。

02/产品信息

货号	产品名称	规格（单组分）
1010004	Gentle AP30 全能原代细胞核酸转染试剂	7.5 mL
1010005	Gentle AP30 全能原代细胞核酸转染试剂	30 mL
1010006	Gentle AP30 全能原代细胞核酸转染试剂	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. DNA/mRNA/siRNA转染体系推荐

孔板规格	试剂用量 (μL)	DNA/mRNA (μg)	siRNA (pmol)	细胞悬液 (μL)	悬浮细胞细胞数量 (cells/well)	贴壁细胞细胞数量 (cells/well)
96孔	40	0.5-1	40	20	1×10^5	2×10^4
48孔	80	1-2	80	40	2×10^5	4×10^4
24孔	200	2.5-5	200	100	5×10^5	1×10^5
12孔	500	7.5-15	600	250	1.25×10^6	2.5×10^5
6孔	800	10-20	800	400	2×10^6	4×10^5

05-1/实验步骤-悬浮转染（推荐使用）

实验前准备

细胞活率 > 90%，无菌无酶离心管、完全培养基、Opti-MEM培养基、胰酶（贴壁细胞悬浮转染需要）、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。

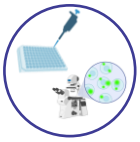
2 细胞样品准备

取胰酶消化后的细胞（悬浮细胞直接使用），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（悬浮细胞）或1×10^6 cells/mL（贴壁细胞）。

-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30 min。孵育时间可根据细胞类型进行调整，建议勿超过2 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。

Genda-Bio

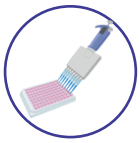
05-2/实验步骤-贴壁转染

实验前准备

细胞提前计数铺板，转染时细胞汇合率达到70-80%，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

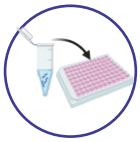
按表1比例在离心管中加入转染试剂和对应量核酸，温和吹打30-60 s，室温静置3 min以上。



2 细胞样品准备

取待转染细胞，弃去培养基，加入无血清Opti-MEM培养基洗涤1-2次。

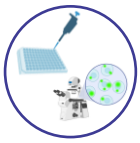
-Note：需避免FBS或其他蛋白影响实验结果；无Opti-MEM时，可以使用MEM等无蛋白培养基替代



3 细胞转染

将转染混合液一半体积的Opti-MEM加入到转染混合液所在的离心管中，轻柔多次吹打30-60 s，再将混合液加入到对应孔板中，轻轻震荡，使混合液分布均匀，37℃培养箱孵育30 min，可根据细胞状态调整孵育时间，但不建议超过2 h。

-Note：Opti-MEM与转染复合物需充分混匀，防止因局部浓度过高造成细胞死亡



4 终止转染

弃去转染混合液，用完全培养基清洗细胞后，加入适当体积的完全培养基继续培养。在转染后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2 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

- **为什么贴壁细胞也推荐悬浮方式转染？**

  Gentle系列试剂转染实验中，将制备的细胞悬液在离心管中与转染混合液孵育，能够实现转染效率最大化，且贴壁细胞无需提前铺板，简化实验步骤。

- **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。

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).

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

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

Genda-Bio