

全能难转细胞核酸转染试剂 (Gentle A30)

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，开发了针对难转细胞系的Gentle A30全能难转细胞核酸转染试剂。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，大幅提升难转细胞核酸递送效率。

02/产品信息

货号	产品名称	规格	试剂组分
1000001	Gentle A30 全能难转细胞核酸转染试剂	0.3 mL	试剂A0.3 mL 试剂B 12 mL
1000002	Gentle A30 全能难转细胞核酸转染试剂	1.8 mL	试剂A1.8 mL 试剂B72 mL
1000003	Gentle A30 全能难转细胞核酸转染试剂	5.0 mL	试剂A5.0 mL 试剂B200 mL

03/产品保存

4°C保存6个月，-20°C保存1年。短期4°C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

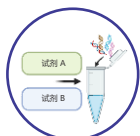
孔板规格	试剂A ($\mu\text{L}/\text{well}$)	试剂B ($\mu\text{L}/\text{well}$)	DNA/mRNA ($\mu\text{g}/\text{well}$)	siRNA($\mu\text{L}/\text{well}$) (初始浓度 20 μM)	细胞悬液 ($\mu\text{L}/\text{well}$)	悬浮细胞 细胞数量 (cells/well)	贴壁细胞 细胞数量 (cells/well)
96孔	1	40	0.5-1	2	20	1×10^5	2×10^4
48孔	2	80	1-2	4	40	2×10^5	4×10^4
24孔	5	200	2.5-5	10	100	5×10^5	1×10^5
12孔	12.5	500	7.5-15	30	250	1.25×10^6	2.5×10^5
6孔	20	800	10-20	40	400	2×10^6	4×10^5

-Note: 本表仅供参考，具体用量可根据细胞类型适当调整；对于贴壁细胞，即使采用悬浮转染方式，种板时仍按贴壁培养的细胞数量进行接种。

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比例在离心管内加入试剂A与试剂B，温和吹打30-60 s；按表1加入对应量核酸，温和吹打30-60 s，室温静置3 min以上。



2 细胞样品准备

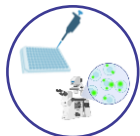
取胰酶消化后的细胞（悬浮细胞直接使用），离心弃去上清，用Opti-MEM清洗重悬细胞，再次离心，Opti-MEM重悬细胞，调整细胞密度至 5×10^6 cells/mL（悬浮细胞）或 1×10^6 cells/mL（贴壁细胞）。

-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°C培养箱孵育60 min。孵育时间可根据细胞类型进行调整，但不建议超过2 h，以免造成细胞损伤。



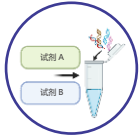
4 终止转染

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。

05-2/实验步骤-贴壁转染

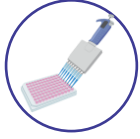
实验前准备

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

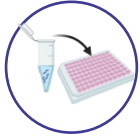
按表1比例在离心管中加入试剂A与试剂B，温和吹打30-60 s；按表1加入对应量核酸，温和吹打30-60 s，室温静置3 min以上。



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。

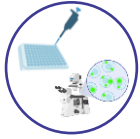
-Note: 需避免FBS或其他蛋白影响实验结果；无Opti-MEM时，可以使用MEM等无蛋白培养基替代



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°C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；
- 配制转染复合物时，保持试剂A：试剂B=1:40；
- 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。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 redox-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