

原代 T 细胞核酸转染试剂

Gentle T30

使用说明书

Version 1.3



金简达生物科技（金华）有限公司

Genda Biotechnology (Jinhua) Co., Ltd.

Tel: +86 19357360203

E-mail: sales@genda-bio.com

01/产品概述

基于多肽的核酸递送是一种最新的递送技术，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]}。

GentleFect™ 技术基于高通量多肽筛选平台，精准识别具有相分离潜力的内源多肽序列，开发了针对常见原代 T 细胞的 Gentle T30 原代 T 细胞核酸转染试剂。多肽通过液-液相分离自组装形成纳米级微滴，借助细胞膜胞饮作用实现高效内化，在维持细胞活性前提下显著提升各类物种原代 T 细胞的核酸递送效率，尤其是提高大片段基因的递送效率。

02/产品特性

- 同时适用于各类核酸分子转染，包括 mRNA, siRNA, circRNA, Crispr 等；
- 预混合转染液和转染缓冲液，仅需往试剂中加入核酸，即可一步完成转染配置。

03/产品规格

货号	名称	包装
1030001	Gentle T30 原代 T 细胞核酸转染试剂	3.6 mL
1030002	Gentle T30 原代 T 细胞核酸转染试剂	15.0 mL
1030003	Gentle T30 原代 T 细胞核酸转染试剂	40.0 mL

04/保存条件

短期 4°C 保存，长期 -20°C 保存。

05/产品组分

- Gentle T30 原代 T 细胞核酸转染试剂

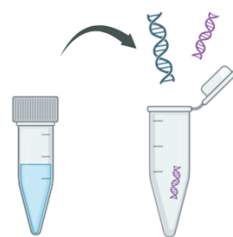
06/实验前准备

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 EP 管。将完全培养基、Opti-MEM 培养液、胰酶、核酸转染试剂恢复至室温，核酸保持低温，**转染试剂在使用前充分混合**。如果核酸为粉末状态，请提前用无核酶水溶解，，混合均匀，此过程在超净台操作。

07/实验步骤图解 (96 孔板)

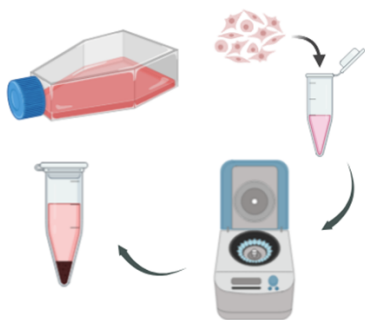
1 配制转染混合液:

- 取 1.5 mL Nuclease free 离心管, **在使用前充分混匀转染试剂**, 按每个 96 孔转染体积, 往离心管中加 40 μL Gentle T30 转染试剂, 再加入 0.5-1 μg 核酸, **温和吹打 30-60 秒**, 室温静置 3 分钟。



01

02



2 细胞样品准备:

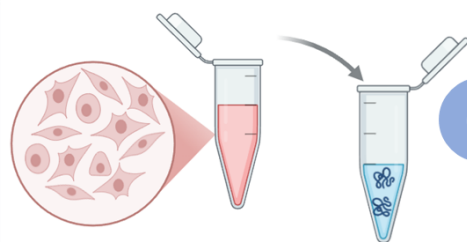
- 取待转染的细胞, 离心 (300g, 5min), 弃去上清, **用 Opti-MEM 重悬细胞, 再次离心弃上清**, Opti-MEM 重悬, **调整细胞密度至 5×10^6 cells/mL**。

(Note: 细胞活率 > 90%, 去除完全培养基, 避免因 FBS/蛋白影响实验结果; 无 Opti-MEM 时, 可以使用 PBS 替代)

3 细胞转染:

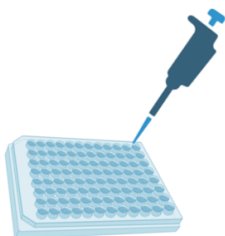
- 按照 96 孔每孔 20 μL 细胞悬液, 加入至转染混合液中, **轻柔混匀**, 37°C 孵育 30 分钟。

(Note: 需保证转染试剂与细胞悬液的体积比为 2:1, 转染试剂与细胞悬液需充分混合; 此次孵育可在孔板或 EP 管 (离心管) 中完成, 时间可根据细胞状态调整, **最好不要超过 2 小时**, 孵育太久易造成细胞损伤。)



03

04



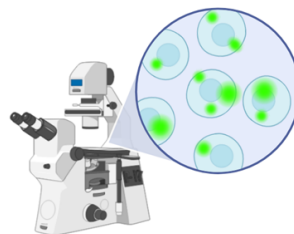
4 终止转染:

- 加 1 mL 完全培养基终止, 离心弃上清, **吸取上清时可留 20-30 μL 液体, 防止吸取到细胞**。重悬于 200 μL 完全培养基, 加入细胞培养板中, 继续培养。

(Note: 进行放大体系转染时, 建议加入的终止液完全培养基体积大于转染混合物体积的 2 倍, 换液后再加入正常量的完全培养基即可)

5 结果检测:

- 在转染后的 12-48 小时内检测目的基因表达情况。



05

08/转染体系

表 1. mRNA 转染体系推荐

孔板规格	转染试剂 (μL)	mRNA (μg)	细胞悬液 (μL)	细胞数量 (cells)
96 孔	40	0.5-1	20	1 x10 ⁵
48 孔	80	1-2	40	2 x10 ⁵
24 孔	200	2.5-5	100	5 x10 ⁵
12 孔	500	7.5-15	250	1 x10 ⁶
6 孔	800	10-20	400	2 x10 ⁶

表 2. siRNA 转染体系推荐

孔板规格	转染试剂 (μL)	siRNA (pmol)	细胞悬液 (μL)	细胞数量 (cells)
96 孔	40	40	20	1 x10 ⁵
48 孔	80	80	40	2 x10 ⁵
24 孔	200	200	100	5 x10 ⁵
12 孔	500	600	250	1 x10 ⁶
6 孔	800	800	400	2 x10 ⁶

①在转染复合物和细胞孵育时，转染试剂的用量和加入的细胞悬液体积比保持在 2:1。

②多个核酸共转染时，每孔转入的核酸量为多个核酸的总和，如 96well 每个孔应转入 0.5-1 μg 核酸，则加入的核酸总量为 0.5-1 μg。

09/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。见参考文献：Enhancement of the viability of T cells electroporated with DNA via osmotic dampening of the DNA-sensing cGAS-STING pathway. Nature Biomedical Engineering.

● 转染试剂用量怎么确定？

原代 T 细胞为悬浮细胞，本试剂可以深度覆盖转染更多的 T 细胞数量，如 96 孔板转染，可以实现从 1x10⁴ 到 2x10⁵ 细胞数范围的高效低毒转染。建议按照表 1、表 2 推荐的转染试剂用量进行转染或根据细胞量来等比增加/减少转染试剂的用量，最低可以转染 5x10³ 个细胞。

● 如何提高转染效率？

- ① 转染前应确保细胞处于良好的生长状态，建议细胞活率大于 90%；
- ② 适当增加转染试剂和核酸的用量。

- ③ 适当延长转染时间，孵育时间长短影响阳性率和细胞活率，根据细胞特性可尝试更短或更长孵育时间。
- 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

● 哪些实验操作会影响转染效率？

- ① 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；
- ② Gentle T30 转染试剂不建议剧烈涡旋，推荐使用移液器温和反复吹打混匀。

● 实验中离心可能出现的问题

- ① 本文中出现的离心程序设置均为室温，300g，5 分钟；
- ② 在转染结束后，可加入 1 mL 完全培养基轻吹混匀，终止转染的同时可去除转染试剂对细胞离心的影响（转染试剂轻微粘稠是属于正常现象）；
- ③ 在转染结束时，EP 管离心后没有看到细胞沉淀是正常现象，这是细胞量较少导致的，可在吸取上清液时留 20-50 μL 液体，防止吸取到细胞。

本产品仅限于专业人员的科学研究使用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

如果在实验过程中遇到任何问题，可通过下方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

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).