

慢病毒包装试剂盒

Lentiviral Packaging Kit

试剂盒内容

产品货号	产品名称	产品规格			储存
		10 T	20 T	40 T	
IMC-017-A	慢病毒包装质粒 A (Lenti-Mix A)	30 μ L (1 μ g/ μ L)	60 μ L (1 μ g/ μ L)	120 μ L (1 μ g/ μ L)	-20℃
IMC-017-B	慢病毒包装质粒 B (Lenti-Mix B)	60 μ L (1 μ g/ μ L)	120 μ L (1 μ g/ μ L)	240 μ L (1 μ g/ μ L)	-20℃
IMC-017-C	慢病毒对照质粒 (Lenti-GFP)	90 μ L (1 μ g/ μ L)	180 μ L (1 μ g/ μ L)	360 μ L (1 μ g/ μ L)	-20℃
IMC-017-D	质粒 DNA 转染试剂 (PEI)	0.6 mL (1 mg/mL)	1.2 mL (1 mg/mL)	2×1.2 mL (1 mg/mL)	2-8℃
IMC-821	慢病毒感染增强试剂 (Polybrene)	0.25 mL (10 mg/ μ L)	0.5 mL (10 mg/ μ L)	1 mL (10 mg/ μ L)	-20℃

产品简介

慢病毒包装试剂盒 (Lentiviral Packaging Kit) 由优化的慢病毒包装辅助质粒 A 与 B (Lentiviral Mix A/B)、表达 GFP 蛋白的对照质粒、高效转染试剂 (PEI) 和慢病毒感染增强剂 (Polybrene) 组成, Lentiviral Mix 能够表达病毒包装需要的各种必需成分如: gag 基因, 编码病毒主要的结构蛋白; pol 基因, 编码病毒特异性的酶; rev 基因, 编码调节 gag 和 pol 基因表达的调节因子; 还含有单纯疱疹病毒来源的 VSV-G 基因, 提供病毒包装所需要的包膜蛋白。慢病毒包装系统产生的慢病毒感染目的细胞后不会再感染其他细胞, 也不会利用宿主细胞产生新的病毒颗粒。慢病毒中的毒性基因已经被剔除并被外源性目的基因所取代, 属于假型病毒。

本试剂盒具有慢病毒包装时间周期短 (一周之内即可获得纯化好的高滴度慢病毒) 和病毒滴度高, 可应用于针对不同基因和药物靶标的细胞学实验和整体动物实验。非常适合于病毒包装初试者。

使用说明

(1) 细胞培养。293T 细胞传代接种于细胞培养皿 (Φ 100 mm), 置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱中培养, 24 h 后细胞密度达到 70%~90%。(细胞密度不宜过大, 否则影响转染效率)

(2) 转染。向 720 μL 1 $\times$ HBS 溶液中加入慢病毒包装质粒 Lenti-Mix (A: 3 μg 、B: 6 μg)，再加入 9 μg 慢病毒骨架质粒 (目的蛋白过表达或 RNAi 质粒，或一管 GFP 对照质粒)，混匀，加入 54 μL 转染试剂 PEI，混合 10 次，室温静置 20 min，滴加入细胞培养液中，轻轻摇匀。

(3) 换液。转染 6-12 h，更换成新鲜的细胞培养液，继续培养。

(4) 慢病毒收集。转染 48 h，收集第一批含有慢病毒的细胞培养上清 (暂时置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存)，

(5) 293T 细胞中再加入 10 mL 新鲜的细胞培养液，48 h 后，收集第二批含有慢病毒的细胞培养上清 (第二批细胞培养上清中的慢病毒滴度高于第一批)。

(6) 离心。含有慢病毒的细胞培养上清转入离心机，4000 g，4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min，弃沉淀，上清转入新的无菌离心管，即是含有慢病毒的细胞培养上清。

(7) 二次离心。含有慢病毒的细胞培养上清转入离心机，12000 g，4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 30 min，弃沉淀，上清转入新的无菌离心管，即是含有慢病毒的细胞培养上清。

慢病毒感染：

(1) 目的细胞培养。目的细胞传代后接种到 6 孔板中，24 h 后细胞密度达到 30%-60%。

(2) 慢病毒感染。弃培养液，加入 2mL 含有慢病毒的细胞培养上清液，再加入 2 μL 的 polybrene (与细胞培养液按照 1:1000 稀释)，轻摇，混匀。

(3) 换液。病毒感染 12-24 h 后，更换成新鲜的培养液，继续培养，若无细胞毒性，可以不换液。

(4) 检测。慢病毒感染 72 h，荧光显微镜下观察 GFP 表达情况，或检测目的基因表达水平。

慢病毒包装所需其他材料 (选用)

1. 1 $\times$ HBS：逸漠生物
2. 293T：慢病毒包装所用工具细胞 (293T cat.NO IM-H222)

注意事项

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
2. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。