

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 $^{\circ}$ C
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 $^{\circ}$ C
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 $^{\circ}$ C
IMC-017-D	质粒 DNA 转染试剂 (PEI)	0.6 mL (1 mg/mL)	1.2 mL (1 mg/mL)	2 \times 1.2 mL (1 mg/mL)	2-8 $^{\circ}$ C
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 $^{\circ}$ C

产品简介

逸漠生物慢病毒包装试剂盒 (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。逸漠生物的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。