

Lentiviral Packaging Kit 慢病毒包装试剂盒

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Lentiviral Packaging Kit 慢病毒包装试剂盒	41102ES10	10 T
	41102ES20	20 T
	41102ES40	40 T

产品描述

翌圣慢病毒包装试剂盒 (Lentiviral Packaging Kit) 由优化的慢病毒包装辅助质粒混合物 (Lentiviral Mix)、表达 eGFP 蛋白的对照质粒和高效转染试剂 (HG Transgene™ Reagent) 组成, 可以兼容第二代和第三代的慢病毒包装质粒, 且具有慢病毒包装时间周期短 (一周之内即可拿到纯化好的高滴度慢病毒)、病毒滴度高的优势, 可应用于针对不同基因和药物靶标的临床前细胞学实验和整体动物实验。非常适合于病毒包装初试者。

产品组分

类别	组分编号	组分名称	储存	产品编号/规格		
				41102ES10 (10T)	41102ES20 (20T)	41102ES40 (40T)
Part I	41102-A	Lentiviral Mix(1 µg/µL)	-20°C	100 µL	200 µL	400 µL
	41102-C	eGFP 对照质粒 (Amp ⁺)	-20°C	1.5 µg	1.5 µg	1.5 µg
Part II	41102-B	HG Transgene™ Reagent	+4°C	0.6 mL	1.2 mL	2×1.2 mL

运输与保存方法

冰袋运输。HG Transgene™ Reagent (41102-B) 于 4 °C 保存, 其余组分(41102-A、41102-C)均于 -20°C 保存。保质期一年有效。

慢病毒包装所需其他材料 (选用)

- 1) DMEM: Hyclone
- 2) FBS,GOLD: MP
- 3) Penicillin-Streptomycin: YEASEN
- 4) HEK 293T/293FT: 慢病毒包装及低度检测所用工具细胞 (HEK293T cat.NO.CEH001)
- 5) Antibiotics: 用于稳定转染细胞株筛选, 如 Puromycin, G418 等
- 6) Competent cells: GMco (Cat: CCE01)

病毒包装前的准备

慢病毒表达载体: 包含病毒包装, 侵染和将病毒重组基因整合到基因组 DNA 中以便表达目的基因或者 shRNA 的基本元件。

DNA溶液的制备: 以 QIAGEN 公司的质粒抽提试剂盒提取慢病毒包装系统中各种质粒 DNA, 质粒 DNA 溶于无菌的 TE 或 ddH₂O 中, 以紫外光吸收法测定其浓度及纯度, 保证所提质粒 DNA 的 A260/A280 在 1.8~2.0 之间。

细胞状态: 良好的细胞状态对病毒的包装至关重要, 避免细胞培养基有细菌、真菌或支原体的污染, 尽量使用传代次数较少的细胞, 如果细胞是刚复苏的话, 最好传两代之后再包装。

慢病毒包装

翌圣生物慢病毒载体表达系统由 pGMLV 慢病毒载体和 Lentiviral Mix 质粒组成。pGMLV 慢载体中含有 HIV 的基本元件 5'LTR 和 3'LTR 以及其他辅助元件, 例如 WPRE 和 cPPT/CTS 等。翌圣可以根据不同的实验目的针对 pGMLV 载体改造以进行启动

子活性研究、基因表达研究、RNA 干扰等研究。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，可以兼容第二代和第三代的慢病毒包装质粒。

使用流程

制备编码慢病毒颗粒的重组病毒质粒及其辅助包装原件载体质粒，重组质粒载体和辅助质粒载体分别进行高纯度无内毒素抽提，使用HG Transgene™ Reagent进行共转染293T细胞，转染后18 h 更换为完全培养基，培养48 h后，收集富含慢病毒颗粒的细胞上清液，对其浓缩后得到高滴度的慢病毒浓缩液，在293T细胞中测定病毒滴度。在一定滴度范围内的慢病毒颗粒可以满足大部分体内体外实验需求。

- 1) **293T细胞分盘**：转染前一天，将已经长好的细胞以合适比例传代到10 cm培养皿中，当细胞长到~80%时准备转染。
- 2) **转染前换液**：转染前1~2 h 将需要转染的细胞换新鲜的培养基，12 mL/10 cm皿。注意：293T细胞贴壁性不是很好，换液时应小心滴加尽量避免冲起细胞。
- 3) **转染**：取无菌的1.5 mL EP管或15 mL离心管，按下列组分配制反应体系：

无血清 DMEM	1 mL
DNA	10 µg
Lentiviral Mix	10 µL(10 µg)
HG Transgene™ Reagent	60 µL

混匀后，室温放置 18 min~20 min 后，均匀滴加到提前换过液的培养皿中，后置于 CO₂ 培养箱中培养。

- 4) **换液**：转染18~20 h后，小心吸掉细胞培养液弃于盛有消毒液的废液杯中（注意：此时培养基中已含有少量的病毒，必须经处理后才能丢弃，所用的移液枪头等必须经消毒液浸泡处理后才能丢弃），然后加15 mL新鲜的培养基（也可根据实验要求换为无血清的DMEM）继续培养。
- 5) **病毒收集**：换液48 h后，吸取细胞上清液于50 mL离心管，4°C，500 g离心5 min，上清液用0.45 µm滤器过滤后转移到新的离心管中。此时上清液中的病毒颗粒可以直接去检测滴度或者感染目的细胞，如果对病毒的滴度及纯度有较高要求，可对上清液进行浓缩与纯化。
- 6) **病毒分装与保存**：将病毒以40~50 µL分装，后保存于-80°C。

注意事项

- 1) 为了您的健康，实验操作时请穿实验服和带一次性手套。
- 2) 本产品仅作科研用途！