

增强型慢病毒包装试剂盒 Lentiviral Packaging Kit

货 号: BN80101

规 格: 10T/20T

运输与保存方法:

冰袋运输。

组分 80101-1/80101-4, -20℃ 保存

组分 80101-2/80101-3/80101-5, 需 4℃ 保存

产品介绍:

百瑞极生物慢病毒包装试剂盒, 对包装系统进行了优化, 增加了我司特有的慢病毒出毒增强培养基。相同的包装量, 相比较实验室常规的包装体系能增加 3-10 倍的出毒量, 让您的病毒包装简单快捷, 让初学者也能快速包装高滴度的慢病毒。

试剂盒的组分包含包装质粒、转染试剂、转染增强剂、慢病毒出毒增强培养基等。适用于基因过表达和干扰慢病毒的包装, 以及后续稳定细胞株的构建。

客户只需构建骨架质粒, 和试剂盒中的包装质粒 Easy Mix 按 1: 1 混合, 用 LipoX Transfection Reagent 将混合后的质粒转染 293T 细胞, 8h 就能看到荧光, 48h 就能收获高滴度的慢病毒, 利用慢病毒浓缩液或者超滤柱能快速浓缩纯化病毒, 为后续感染实验提供高纯度高滴度的病毒。

产品组分:

产品编号	组分名称	储存	产品规格	
			10T	20T
80101-1	Easy Mix	-20℃	75μ l	150μ l
80101-2	转染增强剂	4℃	300ul	600ul
80101-3	LipoX Transfection Reagent	4℃	375ul	750ul
80101-4	EGFP 对照质粒 (Amp ⁺)	-20℃	25μ g	50μ g
80101-5	出毒增强培养基	4℃	475ml	950ml

质粒准备:

本产品仅用于科研

TEL: 010-62960866 www.biorigin.Ltd

慢病毒骨架质粒构建与大提：构建含目的基因或 shRNA 的骨架质粒，并进行大提获得足够质量的无内毒素质粒，且所提质粒 DNA 的 A260/A280 在 1.8~2.0 之间，浓度大于 0.8 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 。

细胞状态：选择状态良好的 293T 细胞进行病毒包装，尽量选择低代数细胞。

实验流程：

实验开始之前，在出毒增强培养基中加入 25ml 优质胎牛血清（5%血清），转染前一天即开始使用此培养基，也可以用此培养基调整细胞状态。

1) 293T 细胞准备：转染前一天，将已经状态良好的 293T 细胞以合适比例接种到 10cm 培养皿中，当细胞长到 80%左右时准备转染；

2) 转染：转染前视细胞状态和密度决定是否提前换液。取两个无酶无菌的 1.5ml EP 管，在 A、B 管中先都加入 500 μl Opti-MEM，然后再分别加入质粒和转染试剂，详细内容参考下表：

组分	体积
Opti-MEM (A 管)	500 μl
骨架质粒 DNA+Easy Mix (A 管)	7.5 μg +7.5 μl (7.5 μg)
Opti-MEM (B 管)	500 μl
LipoX (B 管)	37.5 μl

将 B 管转染试剂混合液加到 A 管中，轻轻混匀后，室温放置 15min~20min 后，再将 AB 管混合液加到细胞中摇匀然后加入转染增强剂 10 μl (10ml 体积加 10 μl)，置于 CO₂ 培养箱继续培养；

3) 换液：转染过夜后，小心弃掉细胞上清（注意收集上清后需要灭菌处理），然后加入 10ml 新鲜的培养基继续培养；

4) 病毒收集：换液 36-48h 后，吸取细胞上清液于 50ml 离心管，4℃ 保存，再重新加入 10ml 新鲜的培养基，24h 后再收集一次细胞上清于第一次的离心管中；

5) 病毒处理：4℃，4000rpm 离心 10min 收集上清液，并用 0.45 μm 滤器过滤后转移到新的离心管中。对病毒进行分装保存，可以直接用于下游实验。如果对病毒的滴度及纯度有较高要求，可用本公司的慢病毒浓缩液（BN80102）对病毒原液进行浓缩与纯化。也可以使用超滤管超滤实现病毒的浓缩；

6) 病毒浓缩：使用本公司的慢病毒浓缩液（BN80102）进行病毒的浓缩，按病毒原液的 1/4 体积加入病毒浓缩液，混匀后 4℃ 过夜（每 20~30min 混合一次，共进行 3-5 次）。第二天，

4℃, 4000rpm, 离心 20min, 吸弃上清后静置管子 1~2 分钟, 吸走残余液体, 再加入适量的 PBS 或培养基溶解慢病毒沉淀; 超滤选择 100KD 大小的超滤管, 4000-6000rpm, 4℃ 离心。

7) 病毒分装与保存: 将病毒原液或浓缩液按合适体积进行分装, 再保存于 -80℃。

注意事项

- 1、构建稳定细胞株时, 可用病毒感染增强剂和嘌呤霉素对细胞进行感染和筛选。
- 2、为了您的健康, 实验操作过程尽量在生物安全柜中完成, 并做好个人防护, 请穿实验服和带一次性手套。所有实验废弃物均需要进行灭菌处理。
- 3、小量病毒包装时, 也可以使用小提质粒。转染时如无 opti-MEM, 可以用 PBS、生理盐水或无血清 DMEM 代替。
- 4、在慢病毒包装过程中使用 opti-MEM 培养基, 将出毒增强剂按照比例 ((10ml 体积加 300ul) 加入 opti-MEM 培养基培养细胞, 会获得更好的出毒效果。