

慢病毒产品手册

Recombinant Lentivirus with GFP
带有绿色荧光蛋白基因的重组慢病毒

产品货号：LVRN-10011



产品介绍

慢病毒（Lentivirus）载体是以人类免疫缺陷型病毒（HIV）为基础发展起来的基因治疗载体，区别于一般的逆转录病毒载体，它对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力，该载体可以将外源基因有效地整合到宿主染色体上，从而达到持久性表达。利用慢病毒载体，可以研究启动子的调控、过表达特定基因或沉默特定基因（RNAi）等。

OriCell®使用第三代包装系统构建的“自失活”性慢病毒，在感染目标细胞后不会再感染其他细胞，也不会利用宿主细胞复制出新的病毒颗粒。

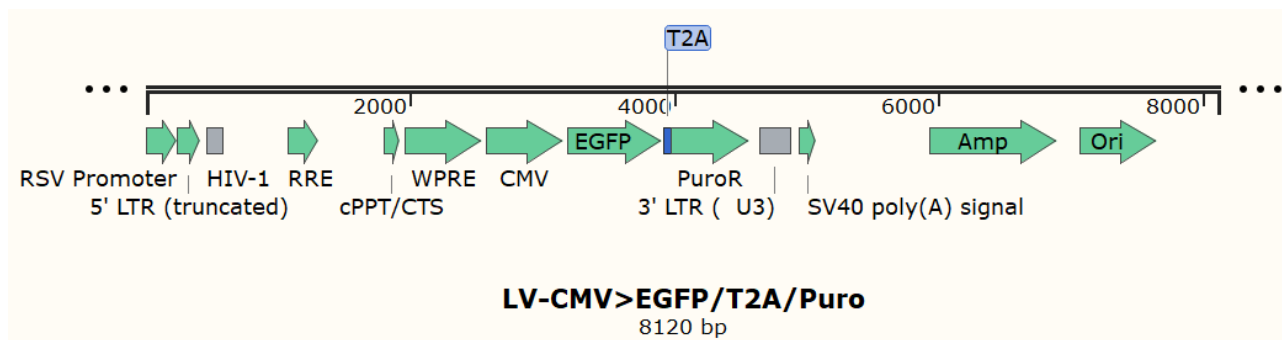
OriCell®的慢病毒产品可在体外高效地转染干细胞、内皮细胞、肝细胞、肿瘤细胞系等多种细胞，在转染细胞时不添加其他辅助转染试剂已可达到良好的转染率，并在细胞内持久稳定地表达。

注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

产品信息

产品名称	带有绿色荧光蛋白基因的重组慢病毒
简称	Recombinant Lentivirus with GFP
货号	LVRN-10011
规格	200 μ L*5 管
颗粒总量	$\geq 1 \times 10^8$ TU/mL
生物安全等级	2
保存条件	-80℃

表达载体信息



质量控制

- 通过病毒滴度检测。
- 通过细菌、真菌、支原体检测。
- 通过转染能力检测检测。

详情见《产品检测报告》。

产品稳定性及保存条件

- 本品可在-80℃环境中保存 12 个月，在 4℃中保存 1 周。
- 本品不可保存于液氮。
- 避免本品反复冻融，每冻融一次可能造成病毒滴度 10%以上的损失。若单次用量较少，请在首次融解时即分装至单次用量。

处理原则

1. 请在生物安全二级的环境中处理本品，操作时需做好充足的防护工作。
2. 用于转染的细胞需保证无支原体感染，多个种类的支原体会严重影响慢病毒的活力，造成转染效果差。
3. 经慢病毒转染后的细胞也需要在生物安全二级的环境中进行后续实验。
4. 若操作过程中有病毒溶液飞溅、倾洒，请立即使用 70%酒精或 0.06%次氯酸钠溶液擦拭干净。
5. 若操作中有病毒溶液接触到皮肤，请立即使用大量肥皂水、消毒洗手液和清水冲洗接触部位的皮肤；
若不慎接触伤口或入眼，请用大量肥皂水或清水冲洗后及时至就近医院处理。
6. 废弃的所有沾染病毒的试剂和耗材，请用 84 消毒液、煮沸、高温灭菌等方式无害化处理后丢弃。

慢病毒的使用

所需材料

- 状态良好的待转染细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 消毒用品

细胞转染操作步骤

Day 1: 准备细胞

1. 细胞消化、离心收集。
2. 根据细胞生长特性，接种至合适的培养板中（建议使用 24 孔板、12 孔板、6 孔板）。
3. 接种细胞的量以 16~24 h 后汇合度达到 30%左右为宜。

注意：1) 为避免后续操作过程中可能出现的纰漏、确保实验数据的可靠性，请准备足够的细胞以设置平行实验组。

2) 一批次实验中，请至少多接种一个孔的细胞用于细胞计数。

Day 2: 转染

1. 从-80℃冰箱中取出慢病毒，放入 4℃冰箱或冰盒中解冻，备用。
2. 预热细胞培养基。
3. 给所有需要转染病毒的细胞更换新鲜的培养基（24 孔板每孔 300~500 μ L，12 孔板每孔 400~800 μ L，6 孔板每孔 1~1.2 mL）。
4. 根据细胞适宜的 MOI 及病毒滴度，加入相应体积的病毒悬液。计算公式：

$$\text{病毒体积} = \frac{\text{MOI} \times \text{细胞数量}}{\text{病毒滴度}}$$

5. 轻柔并充分混匀病毒悬液和培养基，将细胞放回培养箱。
6. 6~8h 后观察细胞状态，若发现形态变化或其他明显异常，则需更换新鲜无病毒的培养基；若无异常，可继续培养过夜后更换新鲜培养基，以保证足够的转染时间。

Day 3~5: 观察、药筛

1. 转染过本品慢病毒的细胞，一般可在 24 h 观察到绿色荧光的表达，在 48~72 h 之间表达量至峰值。
2. 观察细胞的荧光率和表达强度，在转染 48 h 后即可开始药筛（本产品携带嘌呤霉素 puromycin 抗性基因）。
3. 每 2~3 天更换一次含有嘌呤霉素的完全培养基，直到细胞的荧光率达到需要。

注意：1) 请在观察到有明显绿色荧光表达后开始药筛；

2) 各种细胞适合的药筛浓度可能有较大差异，请做好充分测试；

3) 请做好野生型药筛对照，原则上需要加药培养至野生型细胞全部死亡，但部分细胞可能较脆弱，细胞状态明显变差时，请及时停止药筛；

4) 一般嘌呤霉素药效峰值在 48~72 h。

赛业（广州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（广州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。