

## 慢病毒包装试剂盒 (in vivo)

货 号：GC121001696

规格

储存条件：按各组分保存条件保存

10 RNX/20RNX

### 【产品概述】

基恩科 (Gene carer) 生物慢病毒包装试剂盒 (Lentiviral Packing Kit) 由优化的慢病毒包装辅助质粒混合物 (Lentiviral Mix), 高效转染试剂、慢病毒浓缩液, 病毒感染增强剂四部分组成。适用于基因过表达或基因干扰的慢病毒的包装, 以及后续稳转细胞株的构建, **或直接用于动物体内注射。**

### 【主要组成】

| 组分   | 货号          | 产品名称                | 10 次  | 20 次  | 保存    |
|------|-------------|---------------------|-------|-------|-------|
| 组分 1 | GC020100546 | 慢病毒包装辅助质粒 Mix       | 300ul | 600uL | -20°C |
| 组分 2 | GC121001576 | 高效转染试剂              | 300ul | 600ul | -20°C |
| 组分 3 | GC121001699 | 慢病毒梯度浓缩液 (5×)       | 50mL  | 100mL | 4°C   |
| 组分 4 | GC231000538 | 慢病毒感染增强剂 (100×)     | 500ul | 1mL   | 4°C   |
| 组分 5 | GC020400115 | CoGFP 阳性对照质粒 (Amp+) | 20ug  | 40uL  | -20°C |
| 组分 6 | GC230101700 | 辅助收毒液 A             | 200uL | 400uL | 4°C   |
| 组分 7 | GC230101701 | 辅助收毒液 B             | 200uL | 400uL | 4°C   |

【自备试剂】：无菌水, PBS缓冲液, 3%FBS+DMEM培养基, 完全培养基: 10%FBS+DMEM培养基

【收毒液配制】：收毒液: 10%FBS+DMEM培养基+1%辅助收毒液A+1%辅助收毒液B (现配现用)

【运 输】：冰袋运输

【实验前准备及重要注意事项】

1.慢病毒表达载体: 基恩科慢病毒包装试剂盒可以包装 Plenti-, Plvx-, PCDH-等系列慢病毒表达载体, psiH1-, plk0.1-, Lenti-CRISPR 等干扰或敲除表达载体。

[基因修饰细胞 \(敲除、敲入、点突变\)](#) [基础实验服务 \(动物实验、载体构建\)](#)

[病毒包装 \(慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒\)](#)

[试剂 \(常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒\)](#)

2.表达载体质量：无内毒素提取慢病毒表达载体 DNA，质粒 DNA 溶于无菌的 TE 或 ddH<sub>2</sub>O 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，浓度≥500ng/μL，质粒质量和浓度会影响慢病毒滴度。

3.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，传两代之后再进行病毒包装。

4.病毒包装转染前 293T 细胞汇合度约 60%-70%最佳，细胞汇合度太低影响转染后细胞状态，汇合度太高影响转染效率。

5.包病毒后 16-18h 换液，否则转染试剂沉淀会降低病毒滴度。

6.滴度检测用荧光法、抗性法或我公司《滴度检测试剂盒》

【实验步骤】：以10cm培养皿为例

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10cm培养皿中，当细胞长到60%-80%时准备转染。

2) 转染前换液：转染前 1~2h 将需要转染的细胞换新鲜的培养基（3%FBS+DMEM 培养基），10mL/10cm 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 15mL 离心管，加入 1.5ml 的基础培养基，按下列组分配制反应体系：

| 组分                                | 用量（10cm 细胞培养皿） |
|-----------------------------------|----------------|
| 慢病毒包装辅助质粒 Mix（组分 1）               | 30μL           |
| 慢病毒表达载体（客户自备）或 CoGFP 阳性对照质粒（组分 6） | 10.5μg         |

加入 30μL 高效转染试剂 A 液（组分 2），混匀。室温放置 15~20min 后，均匀滴加到提前换过液的培养皿中，缓慢摇匀培养皿使转染试剂均匀分布后置于 CO<sub>2</sub> 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），加 10mL 收毒液继续培养。

5) 病毒收集：换液 24h 后，吸取细胞上清液于 50mL 离心管（4℃保存），加 10mL 收毒液继续培养。换液 24h 后，吸取细胞上清液于前一次离心管中，4℃，500g 离心 5min，上清液用 0.45μm 滤器过滤后转移到新的离心管中，并确定过滤后病毒上清液体积。

6) 病毒浓缩：将慢病毒梯度浓缩液（5×）按照 1：4 的比例添加到过滤后的病毒上清液中（如有 20mL 病毒上清液，则需要加 5mL 新慢病毒浓缩液），10,000 g 离心 4 小时。

7) 吸弃上清或缓慢倒掉上清，可看到管壁病毒沉淀，收集病毒悬液，滴度检测。

8) 滴度检测完成后，将病毒以 40~50μL 分装，保存于-80℃，备用。

[基因修饰细胞（敲除、敲入、点突变）基础实验服务（动物实验、载体构建）](#)

[病毒包装（慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒）](#)

[试剂（常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒）](#)



GENECARER 官方微信，创新基因递送，服务人类健康

- Website [www.genecarer.com](http://www.genecarer.com)
- Service hotline 029-84613682

[基因修饰细胞（敲除、敲入、点突变） 基础实验服务（动物实验、载体构建）](#)

[病毒包装（慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒）](#)

[试剂（常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒）](#)