



EZ Trans 一站式慢病毒包装试剂盒

产品描述

李记生物 EZ Trans 一站式慢病毒感染试剂盒 (EZ Trans Lentiviral Infection Kit) 包含: 慢病毒包装质粒、对照质粒、转染试剂 (EZ Trans Regent)、慢病毒浓缩液、慢病毒感染增强剂等必要组份, 可一站式高效完成病毒包装到感染细胞的全部过程。李记生物慢病毒包装试剂盒 (Lentiviral Infection Kit) 提供足量、优质的对照质粒和包装质粒, 省去实验人员抽提质粒的工作可快速包装病毒感染细胞。

李记生物慢病毒载体表达系统由 pLenti 慢病毒载体和 Lentiviral Mix 质粒组成。pLenti 慢载体中含有 HIV 基本元件 5' LTR 和 3' LTR 以及 WPRE 等其他辅助元件, 表达框为 U6-shRNA(NC)-CMV-EGFP-2A-Puro, 含绿色荧光和 puromycin 真核抗性。客户可以根据不同的实验目的针对 pLenti 载体改造用于启动子、基因功能研究, 稳定株筛选等。Lentiviral Mix 能够表达病毒包装需要的各种必需原件, 可以兼容第二代和第三代的慢病毒包装系统。

订购信息

产品名称	货号	规格
EZ Trans 一站式慢病毒包装试剂盒	AC04L605	5T
EZ Trans 一站式慢病毒包装试剂盒	AC04L610	10T
EZ Trans 一站式慢病毒包装试剂盒	AC04L620	20T

产品组分

组分	AC04L605 (5T)	AC04L610 (10T)	AC04L620 (20T)
A. 对照质粒	16 μ L	32 μ L	64 μ L
B. 包装质粒	110 μ L	220 μ L	440 μ L
C. 转染试剂	450 μ L	900 μ L	1800 μ L
D. 感染增强剂	60 μ L	120 μ L	240 μ L
E. 慢病毒浓缩液	12.5mL	25mL	50mL

运输与保存

蓝冰运输。A、B、D 组分-20 $^{\circ}$ C 保存, C、E 组分 4 $^{\circ}$ C 保存, 有效期 12 个月。

使用方法

一、慢病毒包装及纯化浓缩 (以 10 cm 培养皿为例, 1 皿为 1T)

1. 细胞准备: 293T 细胞按照 6×10^5 cells/mL 的细胞密度传代到 10cm 培养皿中, 第二天细胞长到 80%-85% 时准备转染。
2. 转染前换液: 转染前 1h 将需要转染的细胞更换新鲜的 DMEM, 10mL/皿。
3. 转染:
 - (1) 取 1.5ml EP 管记为质粒混合液 (管 A), 加入 500 μ L DMEM, 16 μ L 质粒 DNA (可自行改造) 和 22 μ L 包装质粒 (浓度为 1 μ g/ μ L), 振荡混匀;
 - (2) 另取 1.5mL EP 管记为转染试剂混合液 (管 B), 加入 500 μ L DMEM, 90 μ L 转染试剂, 振荡混匀。



- (3) 再将管 B 缓慢加入到管 A 中, 轻轻混匀, 静置 8min 形成复合物, 后将混合液均匀滴加到提前换好液的 10cm 培养皿中, 轻轻混匀, 放入培养箱中培养。

A 管	DMEM	500 μ L
	DNA	16 μ L
	包装质粒	22 μ L
B 管	DMEM	500 μ L
	转染试剂	90 μ L

4. 转染后换液: 转染后 6-8h, 将培养皿中的培养基吸掉, 弃于废液杯中, 然后加入 10mL 完全培养基 (含有血清和抗生素) 继续培养。
5. 病毒收集: 转染 48h 后, 吸取上清液于 50mL 离心管中, 4000rpm 离心 10min, 4 $^{\circ}$ C, 将上清液用 0.45 μ m 过滤器过滤转移到新的 50mL 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, 可进行后续操作。
6. 病毒浓缩: 每 10mL 病毒上清液加入 2.5mL EZ 慢病毒浓缩液 (CAT:AC04L442), 混匀, 4 $^{\circ}$ C 放置 2h, 4000rpm 离心 30min, 吸弃上清。
7. 检测及分装: 包装好的病毒可以直接检测滴度, 待用的病毒用 EZ 病毒保护液重悬分装冻存。

二、慢病毒感染细胞 (以 293T 细胞为例, MOI 值为 1)

1. 细胞铺板:

- (1) 将 293T 细胞配成 5×10^4 cells/mL 细胞悬液, 待铺板。
- (2) 将上述细胞悬液接种到 6 孔板, 每孔铺 2mL, 即 1×10^5 cells/well。

2. 感染慢病毒:

- (1) 铺好板细胞培养 12-20h, 准备感染。
- (2) 加病毒, 计算方法: (细胞数 \times MOI 值 / 病毒原液滴度) $\times 10^3$ = 病毒量 (μ L), 加病毒量见下表。

病毒原液滴度 (TU/mL)	MOI = 1, 10 组 (μ L)
1×10^7	100
1×10^8	10
5×10^8	2
1×10^9	1
2×10^9	0.5

- (3) 加感染增强剂: 感染增强剂工作浓度 1mg/mL, 储存液浓度 100mg/mL, 使用 EZ 增强剂与培养基体积按 1:100 比例稀释使用。EZ 增强剂加入后轻摇使其分散均匀。
- (4) 换液: 感染 8-12h 弃去培养基, 每孔加入 2mL 新鲜培养基。
3. 观察: 72h 后观察细胞状态, 根据情况做开展后续实验。(可选)

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 所有慢病毒操作均应尽量在 BSL2 级生物安全柜中进行, 并佩戴一次性医用口罩和手套。
3. 病毒切忌反复冻融, 冻融一次病毒滴度降低 10%-20% 左右。
4. 病毒储存 6 个月后, 建议在使用前重新测定病毒滴度。
5. 提高转染效率, 一些特殊细胞不能加入感染增强剂。
6. 病毒添加量与待感染细胞 MOI 值、病毒滴度、目的基因产物对细胞毒性有关, 病毒添加量计算方法满足大多数实验需要, 实验人员可在此基础上摸索最佳病毒添加量。