

慢病毒包装试剂盒（升级版）

货 号：GC231001575

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。

【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	GC230100548	慢病毒浓缩液 (5×)	50mL	100mL	4°C
组分 4	GC231000538	慢病毒感染增强剂 (100×)	500ul	1mL	-20°C
组分 5	GC020400115	CoGFP 阳性对照质粒 (Amp+)	20ug	40ug	-20°C
组分 6	GC230101700	辅助收毒液 A	2mL	4mL	4°C
组分 7	GC230101701	辅助收毒液 B	2mL	4mL	4°C

【自备试剂】：无菌水, PBS缓冲液, 3%FBS+DMEM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-等干扰表达载体。

[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 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，浓度≥500ng/uL。

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，最好传两代之后再包装。

【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），12mL/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）	30uL
慢病毒表达载体（客户自备）或 CoGFP 阳性对照质粒（组分 6）	10.5ug

加入 30ul 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 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），加 10mL 新鲜的收毒液继续培养。

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 新鲜的收毒液继续培养。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 慢病毒浓缩液），置于冰上，每 20~30min 上下混合一次，共进行 3~5 次；连同冰盒一同 4℃放置过夜。

7) 过夜后，离心机 4℃，4000g 离心 20min，离心 2 次，吸弃上清，可看到管壁病毒沉淀，用适当体积重悬病毒沉淀。

8) 病毒分装与保存：将病毒以 40~50μL 分装，后保存于-80℃。

[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
- 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）