



## 慢病毒包装质粒 Mix

### Lentiviral Packaging Plasmid Mix

#### 产品信息

产品货号	产品名称	产品规格
JY03024/JY03025/JY03026	慢病毒包装质粒 Mix	100 µg/200 µg/400 µg

#### 产品简介

江苑生物的慢病毒包装质粒 Mix (Packaging Mix) 为优化的全套慢病毒包装辅助质粒混合物, 可以兼容第二代和第三代的慢病毒包装系统。本产品附赠表达 eGFP 蛋白的对照质粒 (eGFP Control), 用于验证慢病毒包装效果。本公司还提供**慢病毒包装试剂盒 (江苑生物 JY03021)**, 包含全套的包装组分和试剂。

Packaging Mix 能够表达病毒包装需要的各种必需成分如: gag 基因, 编码病毒的核心蛋白如基质蛋白、衣壳蛋白和核衣壳蛋白等; pol 基因, 编码病毒复制所需的酶如反转录酶、整合酶和蛋白酶; rev 基因, 编码调节 gag 和 pol 基因表达的调节因子; 还含有单纯疱疹病毒来源的 VSV-G 基因, 提供病毒包装所需要的包膜蛋白。江苑生物的慢病毒包装系统产生的慢病毒为“自杀”性病毒, 即病毒感染目的细胞后不会再感染其他细胞, 也不会利用宿主细胞产生新的病毒颗粒。慢病毒中的毒性基因已经被剔除并被外源性目的基因所取代, 属于假型病毒。

本产品具有慢病毒包装时间周期短 (一周之内即可获得纯化好的高滴度慢病毒) 和病毒滴度高的优势, 可应用于针对不同基因和药物靶标的细胞学实验和整体动物实验。非常适合于病毒包装初试者。为了加速科研进程, 江苑生物还提供细胞基因过表达、shRNA/siRNA 介导的基因沉默、CRISPR/Cas9 介导的基因敲除等服务。

#### 产品组分

组分名称	储存	产品货号/规格		
		JY03024	JY03025	JY03026
Packaging Mix	-20°C	100 µg (10 Tests)	200 µg (20 Tests)	400 µg (40 Tests)
eGFP Control	-20°C	10 µg	10 µg	10 µg

#### 保存条件

干冰运输。-20°C 保存, 避免反复冻融, 1 年有效。

#### 还需准备的其他实验材料

- 被包装的慢病毒载体质粒: 在慢病毒包装前, 需要先获得含有目的序列的慢病毒载体, 以无内毒素高纯度的试剂盒提取慢病毒载体质粒, 并将质粒 DNA 溶于无菌的 TE 或 ddH<sub>2</sub>O 中, 测定其浓度及纯度, 保证质粒 DNA A260/A280 在 1.8-2.0 之间。
- 慢病毒包装用 293T 细胞株: 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。
- 细胞培养基, 血清和双抗等
- 质粒转染试剂
- 其他常用实验耗材 (如 10 cm 培养皿, 离心管等)



## 使用说明 (以 10 cm 培养皿, 为例):

1. 293T 细胞分盘: 转染前一天, 将 293T 细胞以合适的比例传代到 10 cm 培养皿中, 当细胞长到 70%-90% 时准备转染。

注: 细胞要充分消化, 成团细胞影响转染效率。

2. 转染前换液: 转染前将 293T 细胞换成新鲜培养基, 10 mL/10 cm 皿。现在的转染试剂例如 Lipofectamine 2000、Lipofectamine 3000、LipoSuper (江苑生物 JY03051) 和其他转染试剂, 多不受血清和抗生素的影响, 此处可换为含有血清和抗生素的完全培养基。具体需根据转染试剂的要求换液。

注: 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: Packaging Mix: 表达目的序列的慢病毒载体质粒=1: 1

★ 以使用 LipoSuper (江苑生物 JY03051) 转染试剂为例:

取一只无菌的离心管, 加入 750  $\mu$ L DMEM (不含血清和抗生素), 10  $\mu$ g 表达目的序列的慢病毒载体质粒 (自行提供), 和 13.5  $\mu$ L Packaging Mix (10  $\mu$ g), 用枪轻轻吹打混匀; 再加入 24  $\mu$ L LipoSuper, 用枪轻轻吹打混匀, 静置 5 min, 请特别注意不可 Vortex 或离心。将混合液均匀滴加到提前换液的细胞培养基中, 轻轻晃匀, 置于培养箱中培养, 后续无需在数小时后更换培养液。

DMEM	750 $\mu$ L
表达目的基因慢病毒载体质粒 (或者 eGFP Control, 作为对照)	10 $\mu$ g (eGFP Control 10 $\mu$ g)
Packaging Mix	13.5 $\mu$ L
LipoSuper	32 $\mu$ L

注: 上述混合液室温存放 6 h 内稳定。

某些细胞对转染试剂比较敏感, 可以在转染后 8-12 小时更换细胞培养液, 转染效率无显著影响。

★ 以使用 Lipofectamine 3000 (Invitrogen L3000015) 转染试剂为例:

取两只无菌的离心管, 一只加入 500  $\mu$ L Opti-MEM 和 32  $\mu$ L Lipofectamine 3000, 用枪轻轻吹打混匀; 另一只加入 500  $\mu$ L Opti-MEM 和 10  $\mu$ g 表达目的序列的慢病毒载体质粒 (自行提供)、13.5  $\mu$ L Packaging Mix (10  $\mu$ g) 及 40  $\mu$ L P3000 试剂, 用枪轻轻吹打混匀。将两管液体混合, 再次用枪轻轻吹打混匀, 不可 Vortex 或离心, 室温孵育 10-15 min。将混合液均匀滴加到提前换液的细胞培养基中, 轻轻晃匀, 置于培养箱中培养, 后续无需在数小时后更换培养液。

第一管	Opti-MEM	500 $\mu$ L
	Lipofectamine 3000	32 $\mu$ L
第二管	Opti-MEM	500 $\mu$ L
	表达目的基因慢病毒载体质粒 (或者 eGFP Control, 作为对照)	10 $\mu$ g (eGFP Control 10 $\mu$ g)
	Packaging Mix	13.5 $\mu$ L
	P3000	40 $\mu$ L

注: 某些细胞对转染试剂比较敏感, 可以在转染后 8-12 小时更换细胞培养液。

Invitrogen 的 Protocol 显示 10 cm 培养皿 Lipofectamine 3000 推荐使用 21.7  $\mu$ L 或者 43.4  $\mu$ L 两种剂量, 自行探索哪个剂量更为合适。本实验室在检测该包装质粒时, 选用的剂量为 32  $\mu$ L

4. 病毒收集: 转染 36 h 左右后, 吸取上清至新的离心管中, 4 $^{\circ}$ C 保存。另外添加 10 mL 新鲜的完全培养基到细胞中, 注意不要冲起细胞。再次大约 36 h 后, 收取上清至同一个离心管中。将两次收集的上清用 0.45  $\mu$ m 滤器过滤后转移到新的离心管中 (若没有 0.45  $\mu$ m 滤器, 将上清 3000 rpm, 4 $^{\circ}$ C 离心 5 min, 弃沉淀亦可)。此时上清液中的病毒颗粒可以直接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, 可对上清液进行浓缩与纯化。



注: 如果使用滤器过滤, 只能使用低蛋白结合力的纤维素醋酸酯或聚醚砜 (PES) 膜, 不能用硝酸纤维素膜 (NC)。

5. (可选) 慢病毒浓缩: 可以使用江苑生物的慢病毒浓缩试剂盒 (JY03011) 进行慢病毒浓缩, 效率更高。同时, 也可以自行配制 PEG-8000 慢病毒浓缩液浓缩慢病毒。

注: 慢病毒滴度测定方法参考 <http://www.jiangyuanbio.com/news/xingyedongtai/179.html> (江苑生物官网→新闻中心)

6. 病毒分装与保存: 将病毒上清或浓缩后的病毒分装, 保存于-80℃。

注: 病毒液一定要分装, 切忌反复冻融, 冻融一次病毒滴度将降低 20-60%。

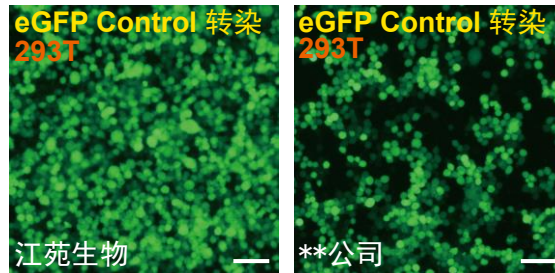


图 1 江苑生物与\*\*公司慢病毒包装试剂盒包装效率比较

## 注意事项

1. 废弃的含病毒的培养基中加入 84 消毒液 (1:20 左右), 浸泡 1 天后丢弃。接触过病毒的枪头, 离心管, 培养板等其他物品可用 84 消毒液稀释液处理, 也可以用煮沸处理半小时或常规灭菌 (121℃, 20 min)。
2. 本产品仅用于科学研究。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 相关产品

产品编号	产品名称	产品规格
JY03011/JY03012	慢病毒浓缩试剂盒	50 mL/100 mL
JY03021/JY03022/JY03023	慢病毒包装试剂盒	10T/20T/40T (10cm dish)
JY03027/JY03028	慢病毒包装质粒 pMD2.G	1 μg/100 μg
JY03029/JY03030	慢病毒包装质粒 psPAX2	1 μg/100 μg
JY03031/JY03032	慢病毒包装质粒 pCMV-VSV-G	1 μg/100 μg
JY03033/JY03034	慢病毒包装质粒 pCMV-dR8.91	1 μg/100 μg
JY03035/JY03036	慢病毒包装质粒 pMDLg/pRRE	1 μg/100 μg
JY03037/JY03038	慢病毒包装质粒 pRSV-Rev	1 μg/100 μg