

CytoLentivirus™ Transfection Reagent

Cat# CT0016

产品概述

慢病毒是基于 HIV-1 改造的，通过去除编码病毒复制必需的基因，使其自身无法复制并产生有感染性的子代病毒，从而大大降低了引发类似天然病毒所致疾病的可能性。慢病毒能使外源基因稳定整合至宿主细胞基因组中，具有感染谱广泛、有效感染分裂期和静止期细胞、长期稳定表达外源基因等优点，因此成为导入外源基因的有力工具，广泛应用于各种细胞系的基因过表达、RNA 干扰等实验。

CytoLentivirus™ Transfection Reagent 转染试剂是 CYTOCH 专门正对慢病毒包装研发的高性能阳离子聚合物转染试剂，适用于包括 HEK293, 293T, 293FT 等细胞的慢病毒包装。CytoLentivirus™ Transfection Reagent 转染试剂可实现高效、高重复性的慢病毒包装，经转染包装获得的对照质粒病毒滴度可达 10⁸ TU/mL，具有感染效率高、感染谱广、重复性高及操作简便等优点。

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
CytoLentivirus™ Transfection Reagent	CT0016-1ML	1 mL
CytoLentivirus™ Transfection Reagent	CT0016-10ML	10 mL
CytoLentivirus™ Transfection Reagent	CT0016-100ML	100 mL

储存方式

2-8℃ 保存。

使用说明

操作前注意事项

- 质粒：**建议选用无内毒素的高质量质粒。质粒中的内毒素会导致转染效率显著下降，推荐使用无内毒素质粒抽提试剂盒进行质粒提取，保证质粒 A260/A280 比值在 1.8-2.0 之间，浓度不低于 500 ng/μL。
- 细胞：**细胞传代次数不宜过高，细胞状态会影响转染效率，从而影响慢病毒产量，建议使用生长处于指数期、存活率大于 90% 的细胞进行慢病毒包装。避免细胞污染细菌、真菌或支原体等，尽量使用传代次数较少的细胞，一般不超过 10 代，如果细胞是刚复苏的话，最好传两代之后再包装。建议细胞传代后 12-24 h 内、细胞密度在 70%-80% 时进行慢病毒包装。
- 由于血清会影响质粒转染试剂复合物的形成，转染时抗生素会影响细胞的状态，因此在准备转染复合物时需用无血清无抗生素培养基稀释 DNA 及转染试剂。
- 所有慢病毒操作均需在 BSL2 级生物安全柜中进行，慢病毒转染操作中涉及的枪头、培养基等废弃物，必须处理后才能丢弃。
- 本产品仅用于科研，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

转染操作（以 6cm 培养皿和 293T 细胞为例）：

1. 接种准备转染的细胞（DAY1 1:00 pm）：

1.1 转染前一天，将 293T 细胞接种至细胞培养皿中培养，转染时细胞密度在 70%~80%为宜。

2. 慢病毒包装（DAY2 1:00 pm）：

2.1 **质粒稀释**：取 100 μ L 无血清无抗生素的培养基（如 Opti-MEM 等）稀释 8 μ g DNA（pSPAX2、pMD2.G 和 PKLV2 的质量比应为 2.4 μ g: 1.6 μ g: 4 μ g），轻轻混匀；

2.2 **转染试剂稀释**：取 100 μ L 无血清培养基加入 16 μ L 的 CytoLentivirus™ Transfection Reagent 转染试剂，轻轻混匀；

2.3 **DNA-转染试剂复合物**：将转染试剂稀释液逐滴滴加到质粒 DNA 稀释液中，轻轻混匀，室温静置 10 min，形成 DNA-转染试剂复合物；

2.4 在形成复合物的过程中，需要移除细胞生长培养基，并在每孔中加入 3mL 新鲜预热的不含抗生素含有血清的培养基。将 DNA 转染试剂复合物缓缓滴加到 293T 细胞中，随后轻轻混匀，置于培养箱中培养。

3. 换液（DAY2 6:30 pm）：

3.1 转染后 6 小时，将含有转染试剂的培养基上清更换为 3mL DMEM 完全培养基。注意，在更换培养基时要轻柔操作，避免吹散细胞。

不同培养皿/瓶推荐试剂用量

培养器皿	表面积 (cm ²)	DNA 用量 (μ g)	转染试剂用量 (μ L)	稀释液体积 (μ L)	培养基用量 (mL)
6 well	9.6	4	8	2x50	2
6 cm	21	8	16	2x100	3
10 cm	55	20	60	2x500	10

4. 收病毒（DAY4 6:30 pm）：

4.1 在转染后的 48-72h，为病毒生产的高峰期，一般我们收集转染后 48h（换液后）的病毒液（如果带有荧光蛋白可以显微镜下看一下转染效率）用于细胞感染实验，足以满足大部分实验需求。如需获得更多病毒，再加入 3mL 不含抗生素含有血清的培养基，转染 72h 后收集病毒。

4.2 收集病毒于 15mL 离心管中，500g，5min 离心去细胞碎片和杂质，随后使用注射器和 0.45 μ m 滤器进行过滤。收集的病毒上清可以用来进行细胞感染和低温储存。

4.3 可通过超速离心或细胞冻存液浓缩以获得更高滴度的慢病毒浓。

5. 病毒储存

5.1 过滤后的病毒液氮中速冻后存于 -80°C 冰箱保存，每次冻融会损失一部分的病毒颗粒，因此冻存前按需分装好，避免反复冻融。也可以暂时存放于 4°C 冰箱，存放 2-3 天，病毒滴度不会有很明显的变化。

6. 慢病毒滴度检测

6.1 使用梯度稀释法感染细胞，通过荧光显微镜或者流式检测病毒滴度，或采用 qPCR 等方法测定病毒滴度。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

CYTOCH