

Easy-T试剂盒产品信息单

- **产品属性：**慢病毒（Lentivirus）感染试剂盒
- **产品包装：**
 - 信息单 x 1
 - 产品使用手册 x 1
 - 干冰盒 x 1
 - 试剂（见下表）

	规格	组成/成分	产品描述	保存和运输
Stimu-Buffer (S溶液)	40μl	抗体&PBS 纯度：>98%	在T细胞激活过程中，加入的S溶液可以调控T细胞增殖和活化的靶基因，引起基因的表达和转录，促使T细胞由静止状态转为增殖和活化状态，从而提高感染效率	干冰运输 保存 2-8°C
TransA (TA溶液)	1ml	蛋白&PBS	TA溶液能够极大的提高逆转录病毒感染哺乳动物细胞的感染效率，同时对T细胞的激活和增殖有促进作用。	干冰运输 保存 <-20°C
TransB (TB溶液)	40ml	试剂	TB溶液包含多种成分，可提高慢病毒对T细胞的感染效率。	干冰运输 保存 2-8°C

• **参数说明：**

滴度为每毫升体系内具有生物活性的病毒颗粒的数量，“TU”为“Transducing Units”；
MOI为使某株细胞80%被感染时所用病毒颗粒数与细胞数目的比值，也称为复感指数。
内毒素单位为“EU/ml”。

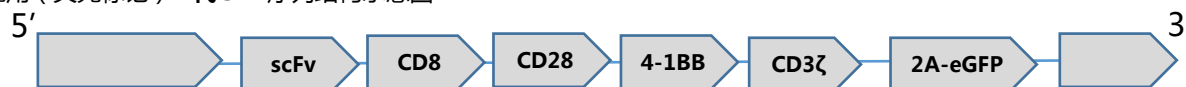
• **慢病毒附加说明：**

- **CAR结构：**慢病毒引入T细胞表达的CAR结构分为三部分，胞外的单链抗体(single-chain variable fragment, scFv)，跨膜结构和胞内共刺激分子结构。其中scFv部分负责对肿瘤细胞的表面抗原进行识别，针对不同的抗原，scFv序列也不相同，目前序列公开可查的scFv有20多种。吉凯公司为您包装的Lenti-CAR慢病毒介导的CAR结构跨膜结构均为CD8。胞内共刺激分子部分主要有II代结构和III代结构，如果您订制的是II代CAR，则共刺激分子由CD3ζ和4-1BB组成，若为III代，则由CD3ζ，4-1BB及CD28组成。同时搭配的对照慢病毒缺失CD3ζ进而丧失信号传导功能。如下图所示（亦有不带荧光对应载体）：

研究用（荧光标记）II代CAR序列结构示意图



研究用（荧光标记）III代CAR序列结构示意图



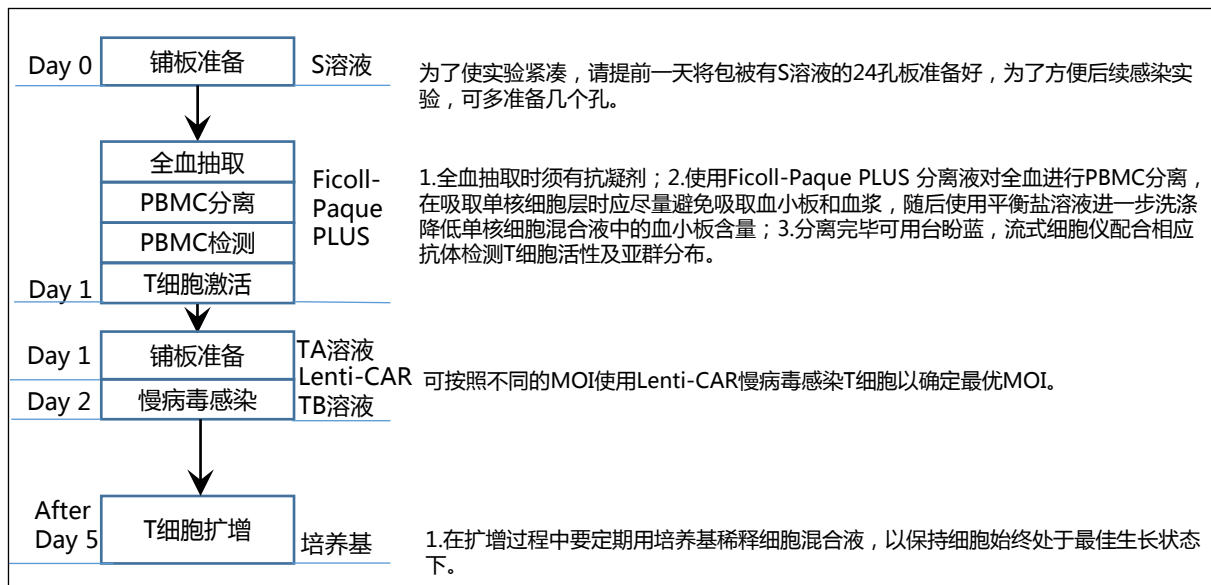
研究用（荧光标记）CAR序列对照结构示意图



产品使用：

使用慢病毒感染T细胞之前需从全血中分离出T细胞并激活，下表为主要步骤和注意事项

注：详细的操作步骤请参阅《Lenti-CAR慢病毒产品使用说明书》



T细胞扩增之后的检测方法及其参考值

检测项目	细胞扩增倍数	CAR表达率	CD3+比例	CD3+CD8+比例	CD3+CD4+比例
检测方法	细胞计数	流式细胞仪	流式细胞仪	流式细胞仪	流式细胞仪
参考值	30~200倍	大于30%	大于90%	50.0~95%	15~46%

使用建议：

1. 使用前请确定是否需要分装。如果您准备在一周内使用完本次包装的慢病毒产品，您可以将产品保存在4°C。若需多次使用，请分装后保存于-80°C，以避免由于反复冻融造成病毒滴度的降低。病毒在-80°C通常可以保存约6个月，之后使用前需重新检测病毒滴度，检测方法见 www.genechem.com.cn
2. 本产品为科研级病毒，虽然经过严格的质量控制，但请勿将本产品用于临床医疗使用。
3. 慢病毒产品虽经处理已不具备自我复制的能力，无危险性，但操作过程中请务必遵守生物实验操作的安全规范。