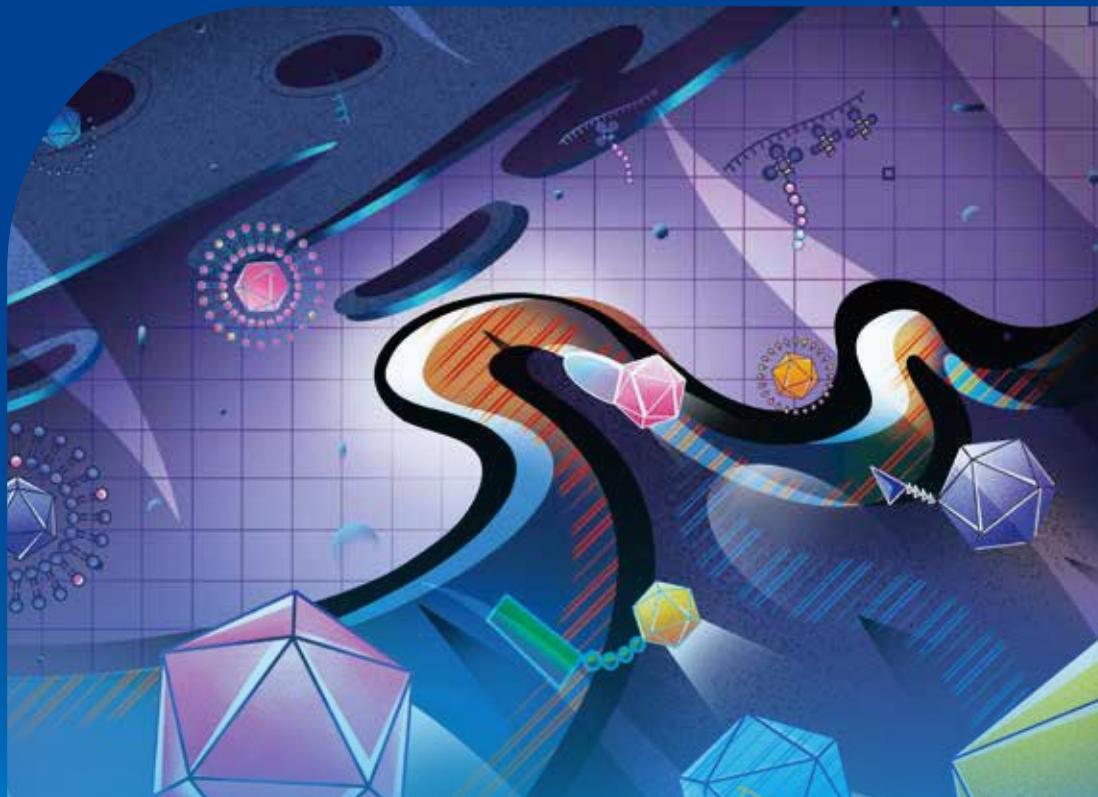


Technical Manuals
of Adeno-associated Virus

AAV产品技术手册



中国创新药物靶标发现者

Discoverer of Chinese Innovative Drug Targets

目录

01

AAV病毒载体的概述、使用注意事项、生产包装

1.1 腺相关病毒的概述	3
1.2 几种常用病毒载体的比较	3
1.3 AAV的优势和局限性	4
1.4 不同血清型的AAV组织趋向性	4
1.5 AAV的运输和储存	6
1.6 AAV的使用安全注意事项	7
1.7 生产重组AAV颗粒的简要流程	7

02

AAV在不同系统中的注射方法及应用文献综述

2.1 AAV 注射方法	9
2.2 免疫荧光切片的制备流程	18
2.3 文献综述	20
2.4 组织特异性 AAV 客户文章	27
2.5 AAV 病毒常见问题解答 Q&A	30
2.6 吉凯 AAV 的定制服务及现货列表	31

03

吉凯基因企业简介

3.1 客户发布文章	38
3.2 合作单位	40
3.3 吉凯基因工程化服务平台	42
3.4 吉凯基因公开课	43

AAV病毒载体的概述、 使用注意事项、生产包装

腺相关病毒的概述

几种常用病毒载体的比较

AAV的优势和局限性

不同血清型的AAV组织趋向性

AAV的运输和储存

AAV的使用安全注意事项

生产重组AAV颗粒的简要流程

01

AAV病毒载体的概述、使用注意事项、生产包装

腺相关病毒的概述

腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV)

是一类细小病毒，基因组为单链 DNA，对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力。通常需要腺病毒或疱疹病毒帮助其在体内复制扩增。

重组腺相关病毒 (recombinant AAV, rAAV)

是利用 AAV2 型基因组与不同血清型的衣壳蛋白基因组结合产生的混合体病毒载体，将目的基因的 CDS 区序列或者 RNAi 干扰序列插入 rAAV 表达质粒中，包装病毒，然后直接使用 rAAV 感染细胞就能完成目的基因操作。

在人类和小鼠中，AAV 感染可以介导外源基因发生低频率（不高于 2%）的定向整合，插入的位置一般在 19 号染色体短臂（人类基因组的 AAV S1 和鼠的 ROSA26 位点）但暂无影响基因组功能的报道。病毒基因组在不发生整合的情况下在被感染细胞内形成伴随体，可以随染色体复制。因此无论整合的外源 DNA 还是不整合的外源 DNA 都可以在细胞核内稳定的复制和转录，产生 RNA 产物和蛋白质产物。

几种常用病毒载体的比较

病毒表达系统	腺病毒 (Adenovirus)	慢病毒 (Lentivirus)	腺相关病毒 (Adeno-associate virus)
病毒基因组	双链DNA病毒	RNA病毒	单链DNA病毒
复制	条件复制	不可复制	条件复制
滴度	最高可达 10^{12} PFU/ml	最高可达 10^9 TU/ml	最高可达 10^{12-13} v.g/ml
感染细胞类型	感染分裂和不分裂细胞	感染分裂和不分裂细胞	感染分裂不旺盛的细胞
表达丰度	高水平表达	中到高水平表达	高水平表达
开始表达时间	快 (1-2 天)	慢 (2-4 天)	1-2周
持续表达时间	病毒基因组游离于宿主基因组外，瞬时表达外源基因	病毒基因组整合于宿主基因组，长时间、稳定表达外源基因	病毒基因组游离于宿主基因组外，在分裂不旺盛的细胞中可长时间表达
克隆容量 (不同载体容量不同，详见载体列表)	适合表达小于 5kb 的外源片段	适合表达长度小于 4kb 的基因	适合表达不超过 2.8kb 的外源片段
免疫原性	较高的免疫原性	低免疫原性	极低的免疫原性
安全性	可能会引起一些咳嗽流涕	暂无发现致病性，已被用于CAR-T治疗作用于人体	暂无发现致病性，已通过欧盟和FDA许可用作基因治疗药物的载体

| AAV的优势和局限性

优势

- **安全性高：**目前还没有发现 AAV 对人体致病，是美国 FDA 批准的可以直接用于人体基因治疗的最安全的病毒载体。
- **免疫原性低：**当 AAV 用局部大剂量感染肌肉、脑、眼等组织时，很少有感染上的细胞之后被免疫系统所清除。这种特性对于动物实验显然极有帮助。
- **感染谱广：**几乎所有处于分裂期和静止期的细胞以及各种器官都可以使用 AAV 来感染。
- **表达时间长：**绝大多数重组 rAAV 不会整合到基因组上，而是在宿主细胞中串联形成附加体 (episome) 在于细胞核中，分裂的细胞在细胞复制和分裂后会丢失附加体，并因此失去基因表达能力，而在细胞分裂不旺盛的组织中可持续表达 5 个月以上。
- **扩散性强：**rAAV 的体积小，滴度高，因此具有远高于腺病毒和慢病毒的扩散性，可以穿透血脑屏障，是最理想的神经元和胶质细胞感染工具。
- **高稳定性：**rAAV 病毒理化性质稳定，可在一定程度上耐受冻溶、高温及多种有机溶剂。
- **特异性强：**rAAV 有十数种常用的血清型，不同的血清型对不同的脏器有较高的识别及感染能力。

局限性

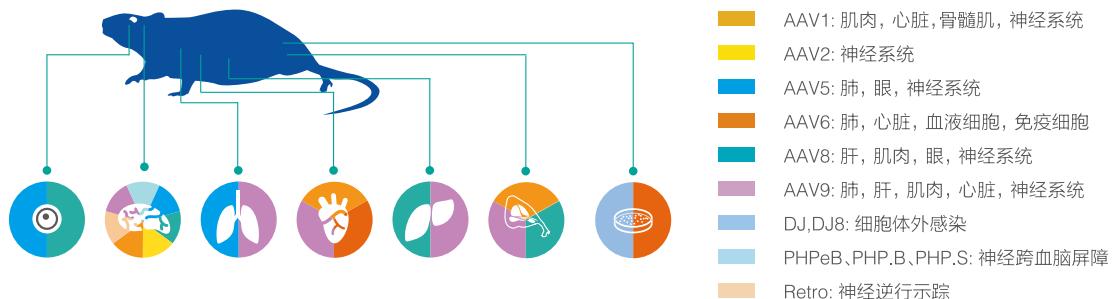
- **适合在体实验，体外实验的感染效率较低：**由于 AAV 病毒衣壳本身结构的原因，除 DJ 血清型外，大部分 AAV 血清型在体外感染细胞的效率较低，所以一般不建议用 AAV 做细胞的体外感染实验。而该病毒在 293T 细胞中具有一定的感染效率，因此，如果病毒在体内实验的感染效果不甚满意，建议可以在 293T 细胞中观察 AAV 病毒的表达情况，以排除病毒本身的因素。
- **外源基因需较长时间开始表达：**rAAV 病毒的基因组是单链 DNA，进入细胞后必须变成双链 DNA 才能转录，因此 rAAV 在感染后需要较长的时间来表达外源基因。建议感染后至少 1-2 周后做切片观察。

| 不同血清型的AAV组织趋向性

AAV 的血清型(即 AAV 的抗血清类型)

指的是目前已发现的数十种不同衣壳蛋白的 AAV，不同的 AAV 具有不同的衣壳蛋白空间结构、序列和组织特异性，因而其识别与结合的细胞表面受体也相应有很大差别，因此它们在体内产生不同的抗血清类型，这也导致不同 AAV 血清型感染的细胞类型和感染效率也各不相同，其中 AAV 9 型因为感染谱比较广，应用最广泛。

吉凯基因提供十余种血清型涵盖主要系统组织和脏器,包括多种组织特异性血清型



组织特异性血清型

此外研究人员不断对 AAV 衣壳蛋白进行改造,通过位点突变或插入靶向肽获得能够只感染特定细胞类型的组织特异性血清型,目前吉凯基因可提供多种组织特异性血清型。

血清型	组织特异性
rh74	肌肉组织特异性血清型
sig	内皮特异性血清型
ENT	内皮特异性高转导血清型
BR1	脑血管内皮细胞特异性血清型
其它特异性血清型持续开发中……	

组织特异性启动子

启动子是位于结构基因 5' 端上游的 DNA 序列,能活化 RNA 聚合酶,使之与模板 DNA 准确的结合并具有转录起始的特性。组织特异性启动子是指可调控外源基因在某些特定来源的细胞或组织部位中表达的启动子,它们大部分来源于特定细胞专一表达基因的启动子。

组织	启动子名称	启动子特性
神经	hSyn★	神经元特异性启动子
	mecp2	较短的神经元特异性启动子
	TUBA1A	早期神经元特异性启动子
	c-fos	兴奋神经元启动子
	CaMKIIa★	前脑谷氨酸能神经元特异性启动子
	hVGAT★	GABA能神经元/中间神经元特异性启动子

组织	启动子名称	启动子特性
神经	TH	多巴胺神经元特异性表达启动子
	GFAP★	星形胶质细胞特异性启动子
	Iba1	小胶质细胞特异性启动子
	F4/80	小胶质细胞特异性启动子
	CD68★	小胶质细胞特异性启动子
	CNP	少突胶质细胞或施万细胞特异性表达启动子
骨骼	COL2A1	软骨细胞特异性启动子
	mRUNX2	成骨细胞早期特异性启动子
肺	SP-C	肺上皮细胞特异性
肌肉	cTNT★	心肌细胞特异性启动子
	mNkx2.5	心肌细胞早期特异性启动子
	SM22a★	平滑肌特异性启动子
	MCK	肌肉特异性启动子
	MYOG	成肌细胞特异性启动子
	ACTA1	肌细胞特异性启动子
肝脏	ApoE/hAAT★	肝脏特异性
	TBG	肝脏特异性
胰腺	PDX1	胰腺细胞特异性启动子
脂肪	FABP4	脂肪细胞特异性启动子
	UCP1	棕色脂肪特异性启动子
内皮	TIE★	内皮细胞特异性启动子
	ICAM2★	内皮细胞特异性启动子
皮肤	K14★	角化细胞特异性表达
视网膜	rpe65★	视网膜特异性启动子
更多组织特异性启动子持续开发中，欢迎咨询		

AAV的运输和储存

- AAV 稳定性较好,如您收到的病毒已出现一些解冻的情况,对其质量的影响不大。
- 收到病毒液后,可于 -80°C 冰箱长期保存,如果病毒原液滴度过高,可以用 PBS 稀释后分装保存于 -80°C 冰箱,尽量避免反复冻融。
- 病毒使用时,请将病毒从 -80°C 冰箱取出,冰浴融化,4°C 存放,并尽量在一周之内用完。
- 由于 AAV 为含有蛋白质外壳的病毒载体,因此在使用过程中,应避免病毒被蛋白酶污染,失效。
- 在病毒使用过程中,应避免细菌等其他微生物污染,特别是细胞实验时,应保持其无菌,以免污染细胞。当同一种病毒既要用于动物实验,又要用于细胞实验时,建议将两种病毒分开放置,以免发生交叉感染。
- 收到货物时,如遇到包装破损等问题,请及时与我们的工作人员联系。

AAV的使用安全注意事项

在使用 AAV 前,使用者应当对 AAV 病毒载体的安全问题有充分的了解,虽然 AAV 的安全性比腺病毒或慢病毒更高,且野生型 AAV 在人群中广泛分布,但考虑到其病毒的天然属性,以及我们制备的 AAV 滴度比自然环境中的要高多个数量级,使用者在操作中保持一定的警惕性也是相当有必要的。

- 请在 BSL-2 生物安全二级生物安全柜中操作病毒,如果实验条件不能满足,则应当在空气稳定的空间中操作,减少操作时间和病毒与外界接触的时间,不要在开放的工作台上操作病毒。
- 操作病毒和转染细胞时,请务必穿着实验服,佩戴口罩和一次性手套。
- 如果不小心病毒飞溅或是气溶胶与眼、皮肤、黏膜接触,请用大量清水冲洗接触部位至少 15 分钟。如果被含病毒的针头或是其他利器刺破皮肤,伤口立即用 10% 的碘伏擦洗数分钟,然后用大量清水冲洗。
- 耗材处理:对 AAV 最有效的消毒剂是新鲜配制的 1% 的次氯酸钠溶液,配制时用 84 消毒液加水稀释,浸泡 15 分钟以达到消毒目的。对于一些易腐蚀的物品,可以采用 2% 的戊二醛溶液或者 0.25% 的 SDS 溶液,还可以 121℃ 高温消毒 1 小时。
- 实验完毕脱掉手套后,请立即用肥皂和水清洗双手。

生产重组AAV颗粒的简要流程

- **第一步:** 把外源基因克隆进合适的病毒载体。
- **第二步:** 重组表达质粒同 pHelper (携带腺病毒来源的基因) 和 pAAV-RC (携带 AAV 复制和衣壳基因) 共转染进 AAV-293 细胞 (提供 AAV 复制和包装所需的反式作用因子)。转染 2 到 3 天后重组 AAV 在包装细胞中组装完成。
- **第三步:** 从被感染 AAV-293 细胞中收集 AAV 病毒颗粒。一般 AAV 颗粒会富集在包装细胞中,所以收集细胞而后裂解释放 AAV 颗粒到上清中可以回收大部分的 AAV 颗粒。
- **第四步:** 浓缩并纯化第三步的病毒上清液。原上清液里面包含了许多细胞蛋白分子和碎片,动物实验都需要纯化后的病毒才能够进行,否则会达不到所需剂量并引起副作用。
- **第五步:** 用定量 PCR 法测定所得到病毒的滴度。这种方法可以得到被包装到颗粒中的 AAV 基因组的物理滴度值。AAV 的感染滴度值因为所感染的细胞、AAV 外壳蛋白和测试条件不同有很大差异,并且体外的实验数据不能反映体内的感染情况,所以在比较 AAV 时,定量 PCR 得到的物理滴度值是一个更客观的数值。



1.将目的片段克隆进入载体



2.与包装质粒一同转染293细胞



3.收获病毒并进行初步处理



4.离心、超滤纯化病毒



5.测定滴度、分装、保存病毒

AAV在不同系统中的 注射方法及应用文献综述

AAV注射方法

免疫荧光切片的制备流程

文献综述

组织特异性AAV客户文章

AAV病毒常见问题解答Q&A

吉凯AAV的定制服务及现货列表

AAV在不同系统中的注射方法及应用文献综述

AAV注射方法

由于体内各组织器官的结构和分布不同,在 AAV 感染时要选择相对合适的注射方法以达到最佳的感染效果,这里总结了针对不同组织器官常用的 AAV 注射方法,具体介绍如下。

尾静脉注射

适用组织器官: 全身大部分器官,尤其是肝脏、血管等

1.实验前准备

准备内容: 小鼠、小鼠固定器(或 50ml 离心管)、1ml 注射器、酒精棉球、病毒(冰浴融化)、生理盐水或 PBS。

2.小鼠固定

- 首先提取小鼠尾巴,将其放在鼠笼盖或手臂上,并进行适当安抚;
- 然后将小鼠装入固定器(可用 50ml 离心管改造)中,盖紧盖子,并使其尾巴朝外露出;
- 用酒精棉球擦拭小鼠尾巴,使其血管扩张(也可用热水、加热器等);

3.病毒注射

- 用生理盐水或 PBS 将病毒稀释至合适滴度(控制病毒注射体积在 100-200 μ l);
- 用 1ml 注射器吸取 100~200 μ l 病毒;
- 将小鼠尾巴拉直使其红色静脉清晰可见,在距尾尖 1/3 处进针,缓慢注入病毒后拔出,用棉球按压注射点 1min 左右以止血;

4.动物恢复

将小鼠从固定器上取下,放回原饲养笼中。



注意事项:

- 正式注射病毒前应注射蓝墨水等有色溶液,确定尾静脉注射的准确性,防止进针位置不准确导致的病毒外泄而影响病毒感染效果;
- 根据我们的测试经验,同等剂量下病毒注射体积越大,病毒感染效果越好,所以小鼠尾静脉注射时建议注射体积在小鼠可承受范围内尽可能的大一些。

腹腔注射

适用组织器官: 脂肪、肌肉、胰腺、肠道等全身器官,新生鼠

1.实验前准备

准备内容: 小鼠、病毒液(冰浴融化)、1ml 注射器

吸取病毒: 用 1ml 注射器吸取适量病毒,置于冰上备用。

2.小鼠固定

- 首先提取小鼠尾巴,将其放在鼠笼盖或手臂上,并进行适当安抚;
- 然后左手握小鼠,用拇指和食指捏住小鼠颈背部,用无名指及小指固定其尾和后肢,确保小鼠躯体舒展且不能乱动。



小鼠腹腔注射示意图(图片来自吉凯)

3、病毒注射

- a. 右手取吸好病毒的注射器,翻转左手使小鼠头部朝下且腹部完全暴露给操作者;
- b. 手持注射器在下腹部离腹白线约 0.5cm 处下针,使针头与小鼠腹部约成 30°夹角刺入腹部,刺入过程中如感觉到抵抗力突然消失,表明针头已进入腹腔,此时调整针头方向约与小鼠腹部平行,缓缓进针;
- c. 针头进入适当距离后,匀速注射病毒液后,缓缓拔出针头(旋转针头以避免漏液);

4、动物复苏

将小鼠放回原饲养笼中,注意观察小鼠状态。

注意事项:

- a. 注射时一定要保持小鼠头部朝下,保证腹部脏器上移,避免注射器针头扎到脏器造成损伤;
- b. 注射体积较大时,可在注射结束后适当轻揉小鼠腹部,加速病毒扩散。

脑立体定位注射

适用组织器官: 全脑或部分脑区

1. 实验前准备

准备内容: 小鼠、病毒液(冰浴融化)、脑立体定位仪、无菌棉球、75% 酒精、双氧水、生理盐水、碘伏、1% 的戊巴比妥、微量注射器、手持式颅骨钻、金霉素眼膏、常用手术器械、加热装置等。

- a. 麻醉: 小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥(剂量为 80mg/kg 体重),放置于饲养笼内,约 5~10 min;
- b. 待小鼠完全麻醉后,用剃毛器将小鼠头部毛发提出干净;

2、小鼠固定

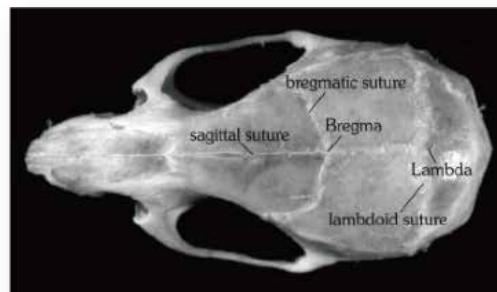
- a. 将麻醉剃毛后的小鼠置于脑立体定位仪上,先将小鼠门齿卡在适配器门齿夹上,轻轻压上门齿夹横杆,调整适配器高度和前后位置,使耳杆可以方便进入外耳道;
- b. 左手托起小鼠头部,将左侧耳杆插入小鼠耳道并固定,接着将右侧耳杆也插入小鼠耳道,调节左右两侧耳杆使动物头部保持在 U 型开口的中心位置,先锁紧固定一侧耳杆,后旋紧另一侧耳杆,使动物头部不能晃动,同时旋紧门齿夹螺丝;
- c. 固定效果检查: 鼻对正中,头部不动,提尾不掉,目测头顶位置水平。

3、暴露头骨及水平校准

- a. 依次用碘伏和 75% 酒精对头顶皮肤进行消毒,之后用眼科剪沿中间位置剪开头部皮肤(长约 0.8 cm);
- b. 去除颅骨表面的结缔组织并用双氧水擦拭,暴露出前囟、后囟(图)
- c. 调整前囟和后囟在同一水平位置,并调整左右两侧平行,将微量注射器针头置于前囟点位置后坐标归零;

4. 病毒注射

- a. 根据注射脑区位置的横纵坐标找到颅骨表面下针点并标记,移开注射针,小心地用颅骨钻轻磨颅骨,将颅骨打薄至出现裂缝,用 1ml 医用注射器针头小心挑开颅骨,一定要防止扎到脑组织(如果此过程出血,可用小的医用棉球拉成长条形将血吸走);



Skull Diagram The dorsal surface of the mouse skull showing the horizontal plane reference points, bregma and lambda. Lambda is defined as the point of intersection of the projection of lines of best fit through the sagittal and lambdoid sutures.

- b. 用 PBS 冲洗微量注射器 3~5 次 (每次吸取 5 μ l);
- c. 吸取病毒：先吸取 1 μ l 空气,再吸取 1 μ l 病毒 (在空气中测试一下注射器是否通畅);
- d. 将微量注射器固定在脑立体定位仪上，并与微量注射泵相联，将微量注射针头经颅骨钻孔处垂直插入脑内目标位置，启动微量注射泵开始注射 (注射速度为 0.2 μ l/min),注射完成后,留针 5~8 min ,缓慢抽出注射器针头。

5. 动物复苏

- a. 用医用缝合线缝合皮肤,再用碘伏对创口及其附近进行消毒;
- b. 将小鼠从脑立体定位仪上取下,放置于饲养笼内 (可在旁边放置电暖器),待其苏醒。

注意事项：

- a. 脑立体定位注射位点精确性要求高,坐标需精确,在正式病毒注射实验前可注射蓝墨水等染料确认注射坐标是否正确;
- b. 调平的质量保证了脑区注射点的准确性,确保在开始注射前调整前囟和后囟点位于同一水平面,两点连线左右相同距离的点也处在同一水平面;
- c. 操作过程中动作要轻柔,不要盲目用力或暴力操作,避免造成脑损伤、注射器针头折弯等影响实验。

脊髓注射

适用组织器官：脊髓局部节段

1. 实验前准备

准备内容：小鼠、病毒液（冰浴融化）、微量注射器、立体定位仪、1% 戊巴比妥、金霉素眼膏、碘伏、75% 酒精、无菌棉球、生理盐水、PBS、剃毛器、常用手术器械、取暖装置等。

- a. 麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥 (剂量为 80mg/kg 体重), 放置于饲养笼内,约 5~10 min ;
- b. 待小鼠完全麻醉后,剔除小鼠背部毛发,眼部涂抹金霉素软膏以保持湿润。

2. 脊髓暴露及固定

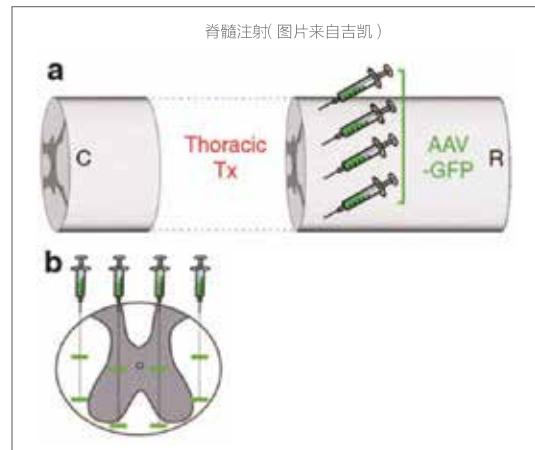
- a. 依次使用碘伏和 75% 酒精对背部皮肤消毒,用一次性手术刀片划开其背部 (约在小鼠俯卧时背部隆起最高处) 皮肤,尽量去除背部肌肉,暴露其椎骨;
- b. 使用耳杆将小鼠脊椎固定在立体定位仪上,确保稳定,用游丝镊去除覆盖在椎间隙上的肌肉和硬脊膜,可见白色的脊髓。

3. 病毒注射

- a. 清洗注射器：用 PBS 冲洗微量注射器 3~5 次 (每次吸取 5 μ l);
- b. 吸取病毒：先吸取 0.5 μ l 空气,再吸取适量病毒 (约 0.5 μ l);
- c. 将微量注射器固定在立体定位仪上并移至脊髓表面,待其刚好接触脊髓表面时,以 45° 倾斜插入脊髓内,针头进入距离 430 μ m (相当于垂直深度 300 μ m),留针 2min 后开始注射 (注射速度 200nl/min),注射一半体积的病毒后,停止注射并留针 2min;
- d. 退针至 Z 轴深度 210 μ m (相当于垂直深度 150 μ m) 处,留针 2min,将剩余病毒注射完毕,留针 3min 后将针头完全退出。

4. 动物复苏

- a. 将小鼠从立体定位仪上取下,对创口消毒后,将背部皮肤缝合并再次消毒;
- b. 将小鼠放回饲养笼 (可在旁边放置电暖器),待其苏醒。



注意事项：

- a. 操作过程中动作要轻柔,不要盲目用力或暴力操作,避免造成脊髓损伤、注射器针头折弯等影响实验;
- b. 脊髓感染一般每节两个位点即可,若发现感染范围不够可适当增多注射点。

鞘内注射

适用组织器官：脊髓

1. 实验前准备

准备内容：小鼠、病毒液（冰浴融化）、微量注射器、异氟烷、气体麻醉系统、金霉素眼膏、15ml 离心管、剃毛器、碘伏、75% 酒精、无菌棉球、取暖装置等。

- 麻醉：将小鼠用异氟烷快速麻醉后，放置于操作台面上，将其口鼻置于连同麻醉系统的软管内，持续给异氟烷使其保持麻醉状态，并在小鼠眼部涂抹金霉素眼膏保护眼睛；
- 在小鼠的脊柱注射目标位置下方放置一 15ml 离心管，使其拱起，用剃毛器将拱起部位毛发剃去。

2. 病毒注射

- 依次用碘伏、酒精对剃毛处皮肤进行消毒；
- 用 25 μ l 微量注射器吸取适量病毒，用手触摸找到要注射的脊髓节段，对着两个棘突中间位置扎针，当小鼠尾部轻微上翘时表示成功插入髓鞘，此时固定针头，缓慢注入适量病毒（一般 5~10 μ l）；
- 病毒注射完稍等片刻，拔出针头，用酒精棉球擦拭皮肤。

3. 动物复苏

关闭气体麻醉系统，将小鼠放回饲养笼内（可在旁边放置电暖器），待其苏醒。

鞘内注射(图片来自吉凯)



注意事项：

- 操作过程中动作要轻柔，不要盲目用力或暴力操作，避免造成脑损伤、注射器针头折弯等影响实验；
- 异氟烷麻醉起效快苏醒快，但要控制好浓度，过量容易致使小鼠死亡；
- 注意控制病毒注射体积，且要抽出适当脑脊液后再注射病毒，避免鞘内压力增加而造成脊髓损伤。

眼部注射（玻璃体注射）

适用组织器官：眼

1. 实验前准备

准备内容：小鼠、病毒液（冰浴融化）、微量注射器、1% 的戊巴比妥、金霉素眼膏、冷光源、取暖装置等。

- 麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥（剂量为 80mg/kg 体重），放置于饲养笼内，约 5~10 min；
- 小鼠麻醉后，在其眼部涂抹红霉素眼膏以保持眼部湿润；

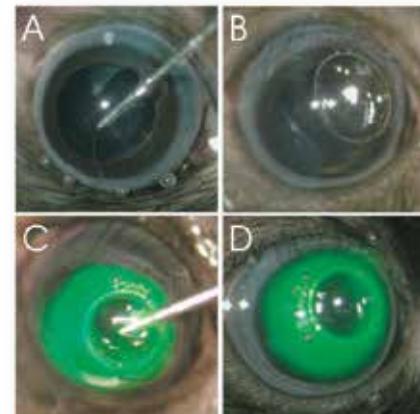
2. 病毒注射

- 用微量注射器吸取适量病毒备用；
- 取完全麻醉的小鼠置于台面上，并给予单一冷光源照射，左手按住头部，稍用力使其眼球部分突出，右手持微量注射器自角膜后缘 1mm 位置插入玻璃体腔内，针尖先垂直进入，随后倾斜，慢慢推注病毒（一般每只眼 1~3 μ l）；
- 病毒注射完毕，慢慢抽出针头。

3. 动物复苏

将小鼠放回饲养笼内（可在旁边放置电暖器），待其苏醒。

眼部注射(玻璃体注射) (图片来自吉凯)



注意事项：

- 对注射病毒的眼睛做好局部抗菌处理，避免眼部感染；
- 眼部注射时注意避开血管

滴鼻注射

适用组织器官：呼吸系统（上呼吸道）

1、实验前准备

准备内容：小鼠、病毒液（冰浴融化）、移液器、1% 的戊巴比妥、取暖装置等。

- 病毒准备：实验前将病毒从 -80°C 冰箱取出，置于冰上融化；
- 麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥（剂量为 80mg/kg 体重），置于饲养笼内，约 5~10min；

2、病毒注射

- 小鼠抓取：取完全麻醉（确保呼吸稳定）的小鼠，用优势手捏住小鼠背部皮肤，并用拇指和食指夹住头部皮肤来固定头部，翻转手腕使小鼠腹部对向操作人员，保持身体舒展，头部向上，身体与水平面呈 45° 倾角，再用非优势手拇指捂住小鼠嘴巴，食指弯曲压在小鼠鼻骨上方（见图 2）；
- 病毒注射：另一操作人员用移液器吸取适量的融化好的病毒液，将移液器尖端置于小鼠鼻孔处并与之呈 90° 夹角，而后均匀缓慢的将病毒逐滴滴注在小鼠鼻孔中（保证滴注过程小鼠不打喷嚏），一侧鼻孔滴注一半体积的病毒后换另一鼻孔；

3、动物复苏

滴鼻结束后将小鼠放回饲养笼内，旁边放置电暖器等适当的取暖装置，待其苏醒。

气管插管注射

适用组织器官：气管、肺

1、实验前准备

准备内容：小鼠、病毒液（冰浴融化）、异氟烷、金霉素眼膏、气体麻醉系统、强光源、气管插管、移液器、常用手术器械、取暖装置等。

- 麻醉：将小鼠放入气体麻醉腔中，通入氧气及 2.5% 的异氟烷，2~3 分钟后使小鼠处于完全无意识状态，并涂抹金霉素眼膏保持眼部湿润；

2、气管插管

- 将麻醉好的小鼠取出仰卧放置在手术板上，用医用胶布固定小鼠四肢并用皮筋穿过门齿固定在手术板上，使其嘴端朝向操作者并呈 45° 夹角，在小鼠鼻孔上方放置连通气体麻醉系统的软管，确保整个实验过程中小鼠处于稳定麻醉状态；
- 在小鼠颈部上方放置一强光源（如 fiber-lite® 高强度光纤柔性光源，Dolan-Jenner Industries, MA United States），使得气管、食管等组织可视化；
- 将钝头的 90° 弯曲的不锈钢镊子深入到舌下，将舌头小心提起以便可以清楚的看到并进入气管，微调至会厌清晰可见（如光线不足可调整颈部上方光源位置）；
- 用不锈钢的弯头钳轻轻地将小鼠的舌头拉出至嘴的一侧并保持，以便直接看到会厌和喉头；

滴鼻注射（图片来自吉凯）



滴鼻注射中小鼠抓取固定示意图

注意事项：

- 麻醉要保证小鼠肌肉完全放松，但呼吸要平稳，如麻醉后小鼠呼吸急促不稳定等不得滴注病毒；
- 传统滴鼻多单人操作，无法捂住小鼠口部，病毒滴注后有可能经口腔呼出等，病毒损失较大，该方法双人操作，可以减少病毒损失，感染效果更好；
- 滴鼻注射时病毒体积不宜太大，一般在 50~80ul，若病毒滴度过高可用无菌的 PBS 或生理盐水稀释；
- 滴鼻注射时小鼠鼻子周围不可有湿润，否则病毒溶液会流走而损失。

气管插管注射（图片来自吉凯）



e. 用惯用手将套管针置于食指和中指之间,用拇指稳定套管,引导套管经口和喉头进入气管,至气管分叉处立即停止前进,迅速移除金属导丝,在套管的末端连接气体麻醉系统导管,确保持续通氧气及异氟烷;

3. 病毒注射

a. 吸取适量病毒,待小鼠稳定时,短暂移去麻醉系统导管,使用移液器将病毒注入套管使小鼠吸入;

b. 再将气体麻醉系统导管与套管相连,维持 5~10min;

4. 动物恢复

a. 待病毒完全吸入后撤掉气管插管,关闭气体麻醉系统;

b. 将小鼠从手术板上取下,放回饲养笼中,旁边放置电暖器等适当的取暖装置,待其苏醒。

注意事项:

a. 异氟烷麻醉起效迅速但恢复也快,在暂时中断异氟烷的操作过程中要动作迅速,另外注意氟烷浓度不宜太高,过高小鼠易死亡;

b. 经气管插管注射病毒时损失较大,一般注射 100 μ l,实际只有约 80 μ l 吸入,因此在注射时要适当增加体积;

c. 病毒注射后要保持小鼠仰卧状态 5min 以上,以便病毒能更好的感染到下呼吸道

气管内注射

适用组织器官: 肺(支气管、肺泡等下呼吸道)

1. 实验前准备

准备内容: 小鼠、病毒液(冰浴融化)、异氟烷、气体麻醉系统、手术板、医用胶布、注射器、常用手术器械、取暖装置等。

a. 麻醉: 将小鼠放入气体麻醉室中,通入氧气及 2.5% 的异氟烷,2~3 分钟后使小鼠处于完全无意识状态;

2. 气管暴露

a. 将麻醉好的小鼠取出仰卧放置在手术板上,将连通麻醉系统的鼻锥放在鼻子上保持麻醉;

b. 用医用胶布固定小鼠四肢使其呈伸展状态并用皮筋穿过门齿固定在手术板上;

c. 剃除小鼠颈部正中位置的毛发,并依次用酒精和碘伏对剃毛处进行清洁及无菌处理;

d. 轻抬小鼠后脚趾确认其处于无意识状态后,用镊子夹起两前肢中间的颈部皮肤,使用外壳手术刀做一个约 5~7mm 的切口,暴露出气管(右图);

3. 病毒注射

a. 用注射器吸取适量病毒,置于冰上备用;

b. 调整小鼠位置使其头部朝向操作者,用非优势手持弯头镊轻轻地固定住气管;

c. 用优势手持注射器,针尖端斜面向上并与气管呈 45°角,沿该方向将针头插入气管几毫米后缓慢注入病毒,注射完毕停顿约 5s 后再慢慢抽出针头;

4. 动物复苏

a. 移走镊子,用缝合线将颈部皮肤切口缝合;

b. 关闭麻醉系统,将小鼠从手术板上取下,放回饲养笼中,旁边放置电暖器等适当的取暖装置,待其苏醒。

气管内注射(图片来自吉凯)



颈部切口暴露气管示意图(图片来自吉凯)



注意事项:

a. 异氟烷麻醉起效迅速但恢复也快,在暂时中断异氟烷的操作过程中要动作迅速,另外注意氟烷浓度不宜太高,过高小鼠易死亡;

b. 针头插入气管后要轻轻地从小鼠身上向外移动,观察确认其是否插入到气管中。

心肌定点注射

适用组织器官：心肌组织

1、实验前准备

准备内容：常规手术器械、静脉留置针、气管插管、10ml 注射器、缝合线、剃毛器、呼吸机、体重秤、微量注射器、干棉球、1% 的戊巴比妥、胰岛素注射针、小鼠、病毒液（冰浴融化）、碘伏、75% 酒精、金霉素眼膏、PBS。

- a. 麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥（剂量为 80mg/kg 体重），放置于饲养笼内，约 5~10 min；
- b. 固定：待小鼠完全麻醉后，将其固定在操作台面，用门齿环固定头部，眼部涂抹金霉素眼膏以保持湿润；

2、心脏暴露及固定

- a. 使用镊子将小鼠舌头拉出，然后用耳镜找到声带，并引导导丝通过声带进入气管，而后在导丝的引导下将导管置入气管内；
- b. 抽出导丝，利用 10ml 注射器吹气观察肺部变化，确定插管放置位置准确，而后用缝合线将导管固定；
- c. 使小鼠处于左侧卧位，将气管内插管与呼吸机连通；
- d. 剔除胸部偏左部位的毛发，用酒精和碘伏依次消毒，盖上手术布，确保手术部位无菌；
- e. 在第四肋间隙做一个 2 厘米的皮肤切口，分割皮下组织和肌肉，通过第四肋间隙进入胸腔，观察左膈神经，在不破坏神经的情况下打开心包，露出左心室；

3、病毒注射

- a. 穿过左心室尖端放置一根 7-0 聚乙烯缝合线，并用一对止血钳夹住缝合线的两端；
- b. 用胰岛素注射针吸取适量病毒载体，用优势手拿胰岛素注射器；
- c. 用非优势手抓住缝合线操控心脏位置，使得最大程度暴露左心室注射位点；
- d. 将胰岛素注射器针头插入心肌，回抽确认无回血后注射适量病毒，然后依次注射其它位点（一般 3~5 个位点，保持位点间距相等，每个位点注射量约 5μl）；
- e. 注射结束后，将 18 号的静脉留置针穿过皮肤并经第五和第六肋间隙进入胸腔，抽出针头；

4、动物复苏

- a. 依次缝合肋间隙、肌肉组织、皮下组织、皮肤；
- b. 皮肤缝合后，将静脉留置针与 10ml 注射器相连，拉出活塞至拉动受阻，保持活塞位置，将静脉留置针和注射器移走；
- c. 待小鼠恢复自主呼吸后，关闭呼吸机撤掉气管内插管，并将大鼠从操作台上取下放入饲养笼内（可在旁边放置电暖器），待其苏醒。

注意事项：

- a. 手术后 4h 和 12h 注射消炎止痛药，防止动物因疼痛而抓挠伤口致使其开线或伤口感染。
- b. 病毒种类不同，其感染扩散范围不同，要根据注射病毒类型选择合适的注射位点数

心包内注射

适用组织器官：新生鼠心脏

1. 实验前准备

准备内容：新生鼠、 $250\mu\text{l}$ 注射器、33 号针头、微套管（内径 0.51mm，外径 1.53mm）、病毒液（冰浴融化）、冰、无菌生理盐水或 PBS、培养皿。

a. 装置准备：在 33 号针头上距尖端 3mm 位置以上位置用微套管覆盖；

b、麻醉：将幼鼠从笼内取出，放入培养皿后置于冰上 2~3min，使其麻醉；

2. 病毒注射：

a. 吸取病毒：用微量注射器吸取足量的病毒，而后更换准备好的 33 号针头并轻推排出气体，放冰上备用；

b、抓取幼鼠：用非惯用手的拇指和食指捏住幼鼠颈部皮肤，翻转手腕使幼鼠腹部朝上，确保能清晰看到胸骨、肋骨和剑突；

c、注射：用惯用手持微量注射器，自左肋骨剑突角下针，而后将针头向上沿与左肋骨边缘平行方向推进 3mm（至套管处）停止，缓慢注射 $50\mu\text{l}$ 病毒液至心包腔，而后缓慢将针拔出；

3. 动物复苏

将幼鼠放回原鼠笼母鼠身边，采取适当保暖措施帮助小鼠恢复。



血管夹闭

适用组织器官：局部血管节段

1. 实验前准备

准备内容：小鼠、病毒液（冰浴融化）、常规手术器械、缝合线、剃毛器、体重秤、微量注射器、干棉球、1% 的戊巴比妥、胰岛素注射针、碘伏、75% 酒精、双氧水、金霉素眼膏、PBS。

a、麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥（剂量为 80mg/kg 体重），放置于饲养笼内，约 5~10 min；

b、固定：待小鼠完全麻醉后，将其固定在操作台面，用门齿环固定头部，眼部涂抹金霉素眼膏以保持湿润；

3. 病毒注射

a. 确定好感染目标节段，分别在其远心端和近心端各夹一个止血夹（根据流向先夹上游），确保血流完全阻滞；

b. 用胰岛素注射针吸取适量病毒（约 $50\mu\text{l}$ ），而后将病毒缓缓注入夹闭的血管节段，30 分钟后拿掉止血夹，恢复血液流通；

4. 动物复苏

a. 先使用可吸收的 4-0 缝合线缝合肌肉，然后用 5-0 缝合线依次缝合皮下组织和皮肤；

b. 将小鼠放回笼内（可在旁边放置加热器），待其苏醒。

血管夹闭(图片来自吉凯)



注意事项：

a. 手术后 4h 和 12h 注射消炎止痛药，防止动物因疼痛而抓挠伤口致使开线或伤口感染；

b. 血管夹闭时间越长病毒感染效果越好，但对下游组织的损伤也越严重，因此夹闭时间不宜超过半小时；

血管夹闭

适用组织器官：肾脏（肾实质）

1. 实验前准备

准备内容：小鼠、1ml 注射器、10 μ l 微量注射器、1% 戊巴比妥钠麻醉剂、无菌生理盐水、75% 酒精、碘伏、棉球、剃毛器、常用手术器械、加热装置等。

a. 麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥（剂量为 80mg/kg 体重），放置于饲养笼内，约 5~10 min；

b. 剃毛：待小鼠进入完全麻醉状态后，用剃毛器剃除掉小鼠背部毛发，暴露背部皮肤；

c. 固定：用胶带将小鼠俯卧位固定于手术台面上，将小鼠头部一侧偏斜，小鼠舌头拉至一侧嘴角，以防窒息，眼部涂抹金霉素眼膏保持湿润；

2. 暴露肾脏

a. 以后正中线为中心，依次用碘伏、酒精对背部皮肤消毒，并铺上无菌手术布（留正中线肋弓下缘区域）；

b. 沿后正中线肋缘下做一长约 1.0 cm 的纵切口，依次切开背部皮肤、皮下组织、肌层，将切口左右水平分离，可见一侧肾脏区域；

c. 用止血钳沿肾门小心分离肾周组织，避开血管和输尿管，暴露肾脏；

d. 将弯头镊置于肾脏下方，轻轻托起肾脏至切口外，使之固定于切口皮肤处；

3. 病毒注射

a. 根据感染目标选择注射位点：全肾感染的话一般在肾脏的上下前后位置选择 4 个位点，局部感染则可选两个位点；

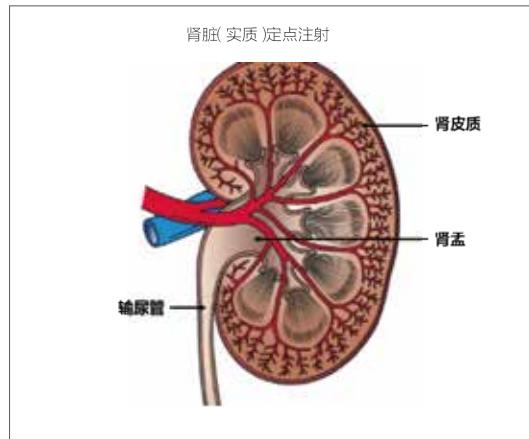
b. 用微量注射器吸取适当体积 (~10 μ l) 的病毒，按上述位点进针，进针深度以针头斜面刚好刺入肾组织即可 (1~2mm)，缓慢注射，注射完毕后短暂留针后再拔出；

c. 检查肾脏无异常后将其小心归位，同样操作完整另一侧肾脏注射；

4. 动物复苏

a. 将肌层、皮肤依次用缝合线缝合，并用酒精对切口消毒；

b. 将缝合好的小鼠从手术台取下，放回饲养笼内（可在旁边放置电暖器），待其苏醒。



注意事项：

a. 注射病毒时操作要轻柔，避免用力过大插入肾盂；

b. 不同病毒扩散范围不同，根据不同病毒的扩散能力适当增减注射点数；

肾孟注射

适用组织器官：肾脏（肾小管等）

1、实验前准备

准备内容：小鼠、1ml 注射器、10 μ l 微量注射器、1% 戊巴比妥钠麻醉剂、呼吸机、气管插管、无菌生理盐水、75% 酒精、碘伏、棉球、金霉素眼膏、剃毛器、常用手术器械、加热装置等。

a、麻醉：小鼠称重后腹腔注射 1% 的戊巴比妥（剂量为 80mg/kg 体重），放置于饲养笼内，约 5~10 min；

b、剃毛：待小鼠进入完全麻醉状态后，用剃毛器剃除掉小鼠左腹毛发，暴露皮肤；

c、固定：用胶带将小鼠仰卧位固定于手术台面上，通过气管插管连通呼吸机，眼部涂抹金霉素眼膏以保持湿润；

2、暴露肾脏

a、在左腹切开一个 2cm 的切口，依次分离皮肤、肌肉及周围组织，暴露左肾和输尿管；

b、用止血夹夹住输尿管上段（阻止注射的病毒液下流至膀胱）；

c、根据小鼠肾脏大小，确定刺入肾孟但又不刺穿肾孟的距离，在 30G 注射针头前段相应位置装上套管；

3、病毒注射

a、将有套管的针头装在微量注射器上，吸取约 50 μ l 病毒原液；

b、将针头缓缓刺入肾脏至套管深度停止，缓慢注入病毒，停留片刻后轻轻拔出针头；

（若双肾注射，右肾按上述同样步骤注射）

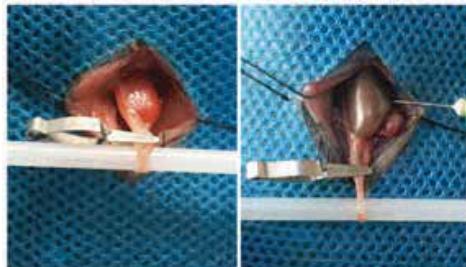
c、约 5min 后移去输尿管上的止血夹；

4、动物复苏

a、将肌层、皮肤依次用缝合线缝合，并用酒精对切口消毒；

b、撤掉气管插管，将缝合好的小鼠从手术台取下，放回饲养笼内（可在旁边放置电暖器），待其苏醒。

肾孟注射



注意事项：

- a、进针时操作要轻柔，避免暴力操作导致肾脏出血损伤；
- b、套管位置刻度要提前做预实验确定，保证不刺穿肾孟；

免疫荧光切片的制备流程

除了病毒注射本身，动物处理、组织处理、冰冻切片，后期染色、图像采集这一系列流程，往往都决定了后期得到的结果质量。经过多年的实验操作，我们总结出一条实验流程，流程看似简单，但是往往一个看似不起眼的细节都会决定结果的质量。

需要遵循的重要原则

- 全程都要保证组织的湿润状态；防止组织干燥，非特异性背景过高。
- 全程保持组织温度 4°C，冰上操作；防止蛋白质分解。
- 如果病毒带有荧光标签，则全程要求避光，防止荧光淬灭。
- 免疫荧光染色实验，要求切片处于湿润状态，片盒下部放水。
- 根据组织的大小，多聚甲醛固定时间尽量不要超过 12-24 小时，否则组织变脆变硬，切片容易出现干裂，非特异性背景过高。
- 整个实验流程尽量在最快的时间内完成，时间越久组织越差、越容易出现不可预料的结果。

小鼠的灌流

为了避免因血液等造成的非特异性背景，需要对小鼠进行心脏灌流。待小鼠完全麻醉后置于手术盘中，腹侧朝上，剪开胸、腹部皮肤和肌肉，打开胸腔暴露心脏，灌流针从心尖刺入左心室并固定，快速滴注 37℃ 的 PBS，同时剪开右心耳，至流出液体基本没有血色，小鼠肝脏黄白色为止。再继续灌注 4% 多聚甲醛固定液 50 ml，观察到灌流过程中小鼠四肢抽搐抖动、尾巴翘起、内脏膨出，肢体僵硬表明灌注完全。

组织处理

对灌注完全的小鼠，使用解剖剪、解剖镊等器械尽量去除所有多余的组织器官，仅保留需要的组织。再将此组织置于装有 4% 的多聚甲醛固定液的 50 ml 离心管中 4℃ 过夜 /12 小时（根据组织大小，固定时间不要超过 12–24 小时，固定时间过久组织变脆，切片会碎裂）。第 2 天倒去 4% 多聚甲醛，用 PBS 置于冰上洗组织 3 遍，每次 5 min，以去除组织上多余的多聚甲醛。然后浸于 30% 的蔗糖溶液 4℃ 脱水。观察组织能否沉降到蔗糖溶液的底部，并且翻转或震荡后仍能沉降，则可判断组织已脱水完全。

包埋

首先在包埋盒上做好标记，标明组织部位、头尾端方向、组别、日期。将处理好的组织从蔗糖里取出置于相应的包埋盒中，用滤纸吸干组织周围多余溶液（避免触碰组织），滴加适量的 O.C.T 包埋剂直至组织完全浸没。用移液枪头小心搅拌组织，使组织与 O.C.T 充分混匀，并尽量避免产生气泡，静置使 O.C.T 与组织充分接触。待气泡消失，调整组织到合适的位置，放于 -80℃ 冰箱中，待 O.C.T 凝固。于 -80℃ 冰箱储存备用（组织不可储存时间过久，尽量在 2 个月之内用完，否则切片质量差）。

冰冻切片

切片前 30 min 将莱卡切片机的箱体温度及刀头温度调至 -20℃，将包埋的组织从 -80℃ 冰箱取出，置于切片机箱体中复温（以防切片时组织断裂）。然后用 O.C.T 将组织块固定于样品托上，然后将样品托固定在样品头上，调整至合适位置，使组织样品与刀头平行，保证组织切片无角度偏差。先将包埋块按大小、部位、切面等要求修理成小块（越小越不容易卷片），再配合使用防卷板与细毛笔，切成合适厚度的薄片。用细毛笔将切片整理平整，并注意一定要避免气泡（可以用毛笔沾一些 PBS 涂抹在贴片部位，再贴片，不会有气泡），再将切片铺在明胶包被过的载玻片上。

免疫荧光染色

- 不需要再和其他的蛋白 marker 进行免疫组化共染：那么冰冻切片后，将切片放在干燥的片盒中，室温下避光晾片 30-45 min，待切片与载玻片贴合牢固，将切片放入染缸中用 PBS 洗 3 次，每次 10 min，清洗掉包埋剂后，用滤纸吸干玻片上多余的 PBS，就可以用封片剂或甘油封片，荧光显微镜观察并采集数据。
- 需要和其他的蛋白 marker 共染：在冰冻切片后，将切片放在干燥的片盒中，室温下避光晾片 30-45 min，待切片与载玻片贴合牢固后，再将湿盒放入通风橱中，每张切片滴加 1 ml 4% 多聚甲醛室温固定 10 min，然后倒掉多聚甲醛，用 PBS 洗三次，一次 10 min。

一抗孵育：将湿盒下部放水，并将切片放回湿盒内，用滤纸吸干玻片上多余的 PBS。可以按照抗体说明书上推荐的比例配制一抗工作液，但是具体的比例还需要几次摸索和调整，然后按照每张切片 200 μ l 的量滴加一抗工作液，小心覆盖封口膜，4℃ 孵育（约 24-48 小时），适当延长一抗孵育时间，抗体结合的效果好。

二抗孵育：一抗孵育时间到，取出切片，揭去封口膜，倒掉一抗，将切片放入染缸用 PBS 洗 3 次，每次 10 min。再按照合适的比例配制二抗工作液（具体的比例都需要一定的时间摸索），按照每张切片 200 μ l 的量滴加二抗工作液，覆盖封口膜，4℃ 避光孵育过夜（约 12 小时）。

封片：第二天取出切片，揭去封口膜，倒掉二抗，将切片放入染缸用 1×PBS 洗 3 次，每次 10 min。将切片取出，并于室温避光晾干。晾干后的切片滴加适量的封片剂或者甘油到载玻片上，小心盖上盖玻片，避免产生气泡，用吸水纸蘸掉多余的封片剂，晾干后，用透明指甲油密封四周防止盖玻片滑动。处理好的切片于 4℃ 冰箱避光保存，为保证图片质量，尽可能现染现拍，防止荧光猝灭。

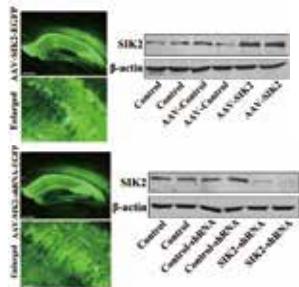
文献综述

表 1：常见靶器官 AAV 使用方法及检测时间参考值

文献	动物	感染部位	病毒类型	注射方法	病毒滴度	病毒用量
01	小鼠	腹侧海马	过表达/干扰AAV	脑立体定位注射	5.0E+12v.g/ml	1μl/位点，两侧海马各打一个位点
02	小鼠	海马CA1	过表达AAV	脑立体定位注射	>1.0E+12 v.g/ml	1μl/位点，两侧CA1各打一个位点
03	小鼠	杏仁核	过表达AAV	脑立体定位注射	>1.0E+12 v.g/ml	1μl/位点
04	大鼠	全脑	干扰AAV	脑室注射	1.0E+12 v.g/ml	5μl
05	小鼠	皮层	干扰AAV	脑立体定位注射	>1.0E+12 v.g/ml	1~1.5μl/位点
06	大鼠	脊髓	荧光对照AAV	鞘内注射	1.0E+13 v.g/ml	1.0E+12v.g (100μl)
07	小鼠	肝脏	过表达AAV	尾静脉注射	1.0E+12 v.g/ml	1.5E+11v.g (200μl)
08	小鼠	心脏	过表达AAV	腹腔注射 (新生鼠) 心肌定点注射 (成年鼠)	~5.0E+12v.g/ml	1.5E+11v.g; 5.0E+10v.g (3μl位点，共3个点)
09	小鼠	心脏	过表达AAV	主动脉注射	>1.0E+12 v.g/ml	3.0E+11v.g
10	小鼠	血管	环状RNA过表达AAV	尾静脉注射	~5E+12vg/ml	5.0E+11v.g
11	小鼠	肺	干扰AAV	滴鼻	1.0E+12 v.g/ml	40μl (4.0E+10v.g)
12	小鼠	骨	干扰AAV	关节腔注射	~1.0E+13vg/ml	~1E+11vg
13	小鼠 (5月龄)	脂肪	干扰AAV	多点注射	5.0E+12v.g/ml	5.0E+10v.g (10μl)
14	小鼠	肾	干扰AAV	肾静脉注射	1.0E+12 v.g/ml	1.0E+11v.g (100μl)
15	小鼠 (4周龄)	结肠	干扰AAV	尾静脉注射	1.0E+12 v.g/ml	5.0E+10v.g (200μl)
16	兔	肿瘤	过表达AAV	瘤内注射	2.0E+12 v.g/ml	1.0~2.0E+11v.g
17	小鼠	眼	过表达AAV	视网膜下注射	2.2E+12 v.g/ml	成年鼠0.5μl，新生鼠0.3μl
18	小鼠	胰腺	过表达AAV	胰腺胆管注射	1E+12 vg/ml	150 μl

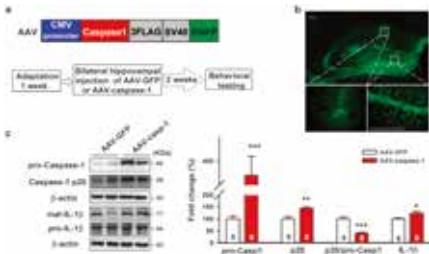
检测时间	杂志	影响因子	原文链接
2周	Biol Psychiatry	12.095	https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.10.004
约3周	Mol Psychiatry	12.384	https://doi.org/10.1038/mp.2017.76
4周	Biol Psychiatry	12.095	https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.09.024
约2周	Front Mol Neurosci	4.057	https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00222
2周	Cell Death and Disease	6.304	https://doi.org/10.1038/s41419-019-1731-x
4周	Science Advances	13.116	http://advances.sciencemag.org/content/4/11/eaau9859
约3周	Cell Research	20.507	https://doi.org/10.1038/s41422-019-0175-2
2~4周	Circulation	23.603	https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040747
5周	J Pineal Res	14.528	https://doi.org/10.1111/jpi.12571
4周	Circulation	23.603	https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049715
14天	Eur J Pharmacol	3.263	https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172613
6周	Nat Commun	12.121	https://doi.org/10.1038/s41467-018-08277-5
约4周	JCI insight	6.205	https://doi.org/10.1172/jci.insight.89044
30天	Redox Biology	9.986	https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101479
约4个月	Nat Commun	12.121	https://doi.org/10.1038/s41467-019-11662-3
3周	Journal of Cancer	3.182	https://www.jcancer.org/v10p1060.htm
2周	eLife	7.08	https://doi.org/10.7554/eLife.51698
1周	Nature Protocol	10.419	https://doi.org/10.1038/nprot.2014.183

1. 腹侧海马, Biological Psychiatry, 吉凯客户文章



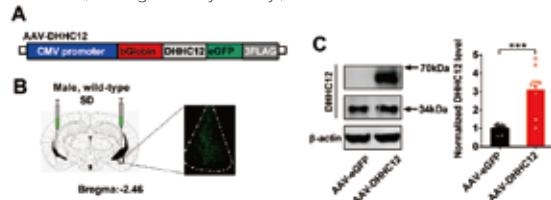
动物	小鼠
感染部位	腹侧海马
病毒类型	过表达 / 干扰 AAV
注射方法	脑立体定位注射
病毒滴度	5.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1μl/位点, 两侧海马各打一个位点
检测时间	2周

2. 海马 CA1, Molecular Psychiatry, 吉凯客户文章



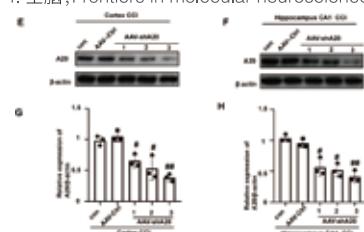
动物	小鼠
感染部位	海马 CA1
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	脑立体定位注射
病毒滴度	>1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1μl/位点, 两侧 CA1 各打一个位点
检测时间	约 3 周

3. 杏仁核, Biological Psychiatry, 吉凯客户文章



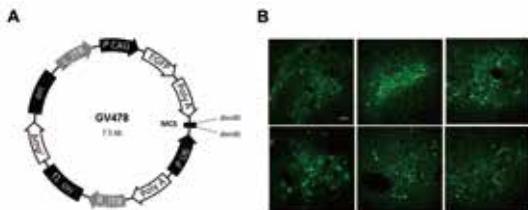
动物	小鼠
感染部位	杏仁核
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	脑立体定位注射
病毒滴度	>1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1μl/位点
检测时间	4周

4. 全脑, Frontiers in molecular neuroscience, 吉凯客户文章



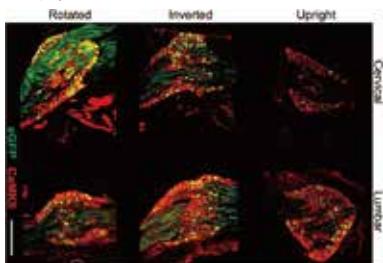
动物	大鼠
感染部位	全脑
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	脑室注射
病毒滴度	1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	5μl
检测时间	约 2 周

5. 皮层, Cell Death and Disease, 吉凯客户文章



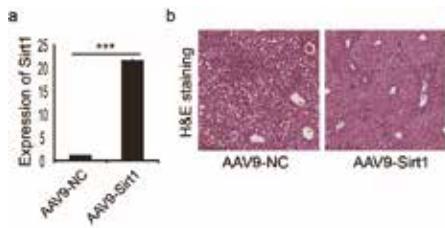
动物	小鼠
感染部位	皮层
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	脑立体定位注射
病毒滴度	>1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1~1.5μl/ 位点
检测时间	2 周

6. 脊髓, Science Advances



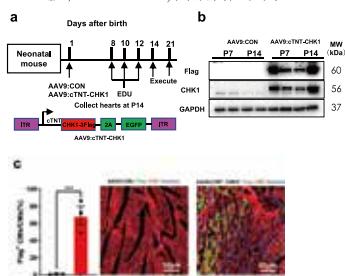
动物	大鼠
感染部位	脊髓
病毒类型	荧光对照 AAV
注射方法	鞘内注射
病毒滴度	1.0E+13 v.g/ml
病毒用量	1.0E+12v.g(100μl)
检测时间	4 周

7. 肝, Cell Research, 吉凯客户文章



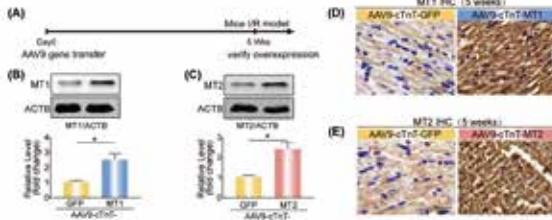
动物	小鼠
感染部位	肝脏
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	尾静脉注射
病毒滴度	1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1.5E+11v.g(200μl)
检测时间	约 3 周

8. 心脏, Circulation, 吉凯客户文章



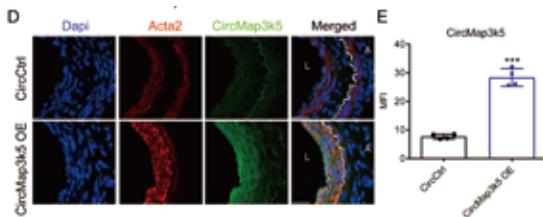
动物	小鼠
感染部位	心脏
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	腹腔注射(新生鼠)心肌定点注射(成年鼠)
病毒滴度	~5.0E+12v.g/ml
病毒用量	1.5E+11v.g; 5.0E+10v.g(3μl/ 位点, 共 3 个点)
检测时间	2~4 周

9. 心脏, Journal of Pineal Research, 吉凯客户文章



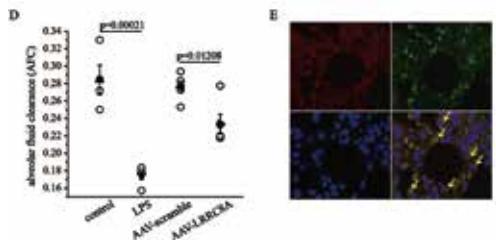
动物	小鼠
感染部位	心脏
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	主动脉注射
病毒滴度	>1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	3.0E+11v.g
检测时间	5 周

10. 心脏, Circulation, 吉凯客户文章



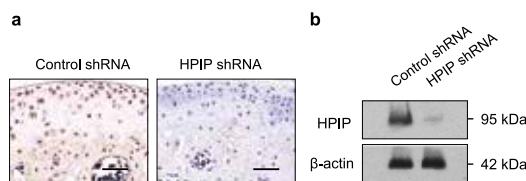
动物	小鼠
感染部位	血管
病毒类型	环状 RNA 过表达 AAV
注射方法	尾静脉注射
病毒滴度	
病毒用量	5.0E+11v.g
检测时间	4 周

11. 肺, European Journal of Pharmacology, 吉凯客户文章



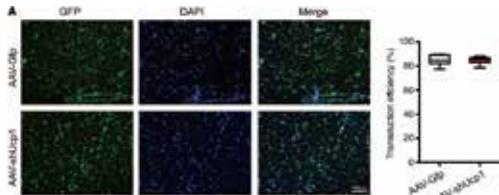
动物	大鼠(6 周)
感染部位	肺
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	滴鼻
病毒滴度	1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	40μl(4.0E+10v.g)
检测时间	14 天

12. 骨, Nature Communications, 吉凯客户文章



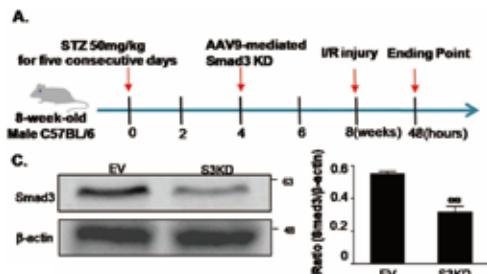
动物	小鼠
感染部位	骨
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	关节腔注射
病毒滴度	~1.0E+13vg/ml
病毒用量	~1E+11vg
检测时间	6 周

13. 脂肪, JCI insight, 吉凯客户文章



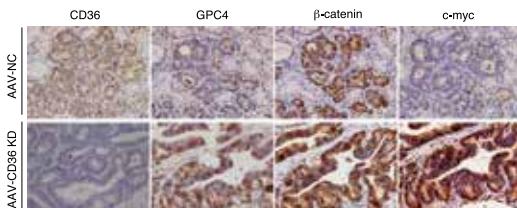
动物	小鼠(5 月龄)
感染部位	脂肪
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	多点注射
病毒滴度	5.0E+12v.g/ml
病毒用量	5.0E+10v.g(10μl)
检测时间	约 4 周

14. 肾, Redox Biology, 吉凯客户文章



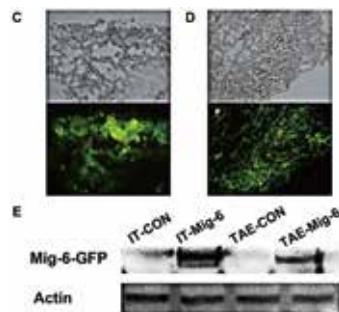
动物	小鼠
感染部位	肾
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	肾静脉注射
病毒滴度	1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1.0E+11v.g(100μl)
检测时间	30 天

15. 结肠, Nature Communications, 吉凯客户文章



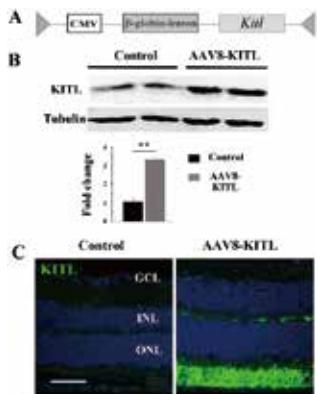
动物	小鼠(4 周龄)
感染部位	结肠
病毒类型	干扰 AAV
注射方法	尾静脉注射
病毒滴度	1.0E+12 v.g/ml
病毒用量	5.0E+10v.g(200μl)
检测时间	约 4 个月

16. 瘤内, Journal of Cancer, 吉凯客户文章



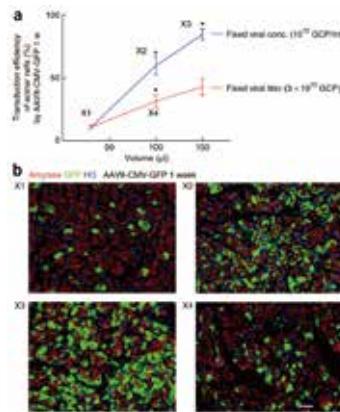
动物	兔
感染部位	肿瘤
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	瘤内注射
病毒滴度	2.0E+12 v.g/ml
病毒用量	1.0~2.0E+11v.g
检测时间	3 周

17. 眼, eLife, 吉凯客户文章



动物	小鼠
感染部位	眼
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	视网膜下注射
病毒滴度	2.2E+12 vg/ml
病毒用量	成年鼠 0.5μl, 新生鼠 0.3μl
检测时间	2 周

18. 胰腺, Nature Protocol



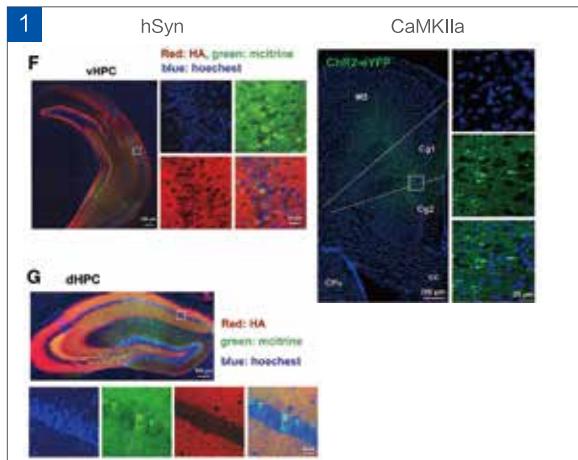
动物	小鼠
感染部位	胰腺
病毒类型	过表达 AAV
注射方法	胰腺胆管注射
病毒滴度	$1E+12$ vg/ml
病毒用量	150 μl
检测时间	1 周

组织特异性启动子AAV客户文章

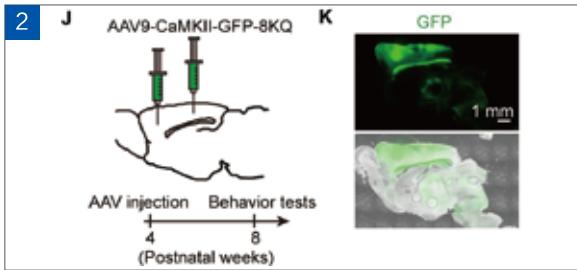
表 2: 组织特异性启动子 AAV 部分客户文章展示

文献	特异性	启动子	杂志	发布时间	影响因子/分区
01	神经元、前脑谷氨酸能神经元	hSyn、CaMKIIa	J Neurosci	2019	5.673/Q1
02	神经元、前脑谷氨酸能神经元	hSyn、CaMKIIa	PLoS Biol	2019	7.076/Q1
03	神经元、前脑谷氨酸能神经元	hSyn、CaMKIIa	Nat Commun	2020	12.121/Q1
04	小胶质细胞	CD68	Genes & Diseases	2020	4.803/Q1
05	星形胶质细胞	GFAP	Transl Stroke Res	2019	5.780/Q3
06	星形胶质细胞	GFAP	Free Radic. Biol. Med.	2020	6.17/Q1
07	心肌细胞	cTNT	Circulation	2020	23.603/Q1
08	心肌细胞	cTNT	J Pineal Res	2020	14.528/Q1
09	肝脏	TBG	J Clin Invest	2020	11.864/Q1
10	视网膜细胞	RPE65	Redox Biology	2020	9.986/Q1
11	视网膜细胞	RPE65	eLife	2020	7.08/Q1

组织特异性启动子文章案例：



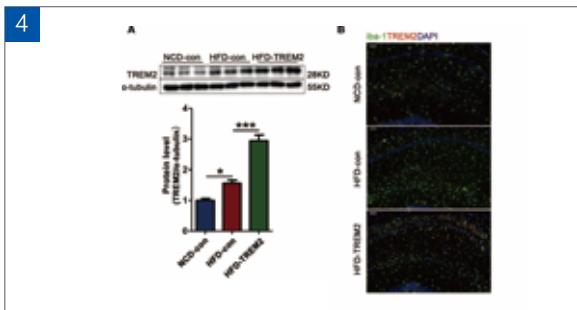
特异性	神经元、前脑谷氨酸能神经元
启动子	hSyn、CaMKIIa
杂志	J Neurosci
发布时间	2019
影响因子/分区	5.673/Q1



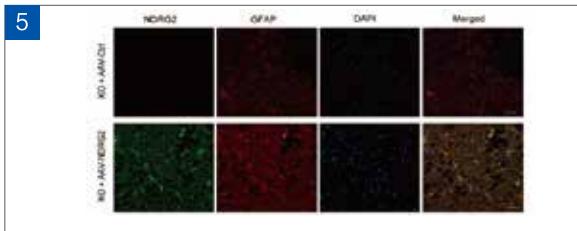
特异性	神经元、前脑谷氨酸能神经元
启动子	hSyn、CaMKIIa
杂志	PLoS Biol
发布时间	2019
影响因子/分区	7.076/Q1



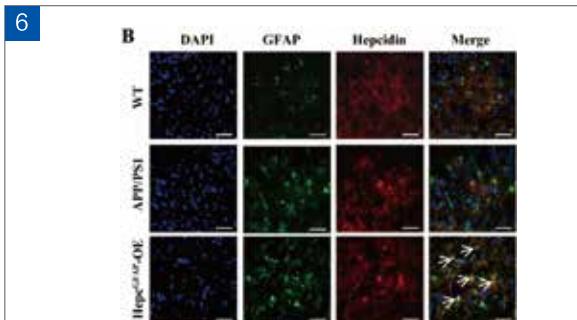
特异性	神经元、前脑谷氨酸能神经元
启动子	hSyn、CaMKIIa
杂志	Nat Commun
发布时间	2020
影响因子/分区	12.121/Q1



特异性	小胶质细胞
启动子	CD68
杂志	Genes & Diseases
发布时间	2020
影响因子/分区	4.803/Q1

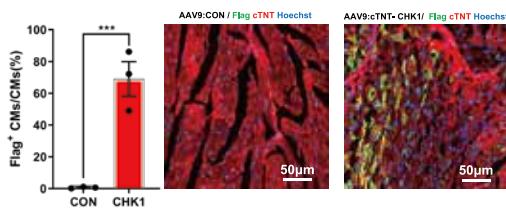


特异性	星形胶质细胞
启动子	GFAP
杂志	Transl Stroke Res
发布时间	2019
影响因子/分区	5.780/Q3



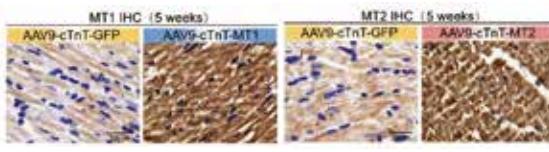
特异性	星形胶质细胞
启动子	GFAP
杂志	Free Radic. Biol. Med.
发布时间	2020
影响因子/分区	6.171/Q1

7



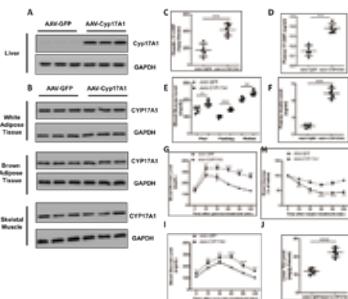
特异性	心肌细胞
启动子	cTNT
杂志	Circulation
发布时间	2020
影响因子/分区	23.603/Q1

8



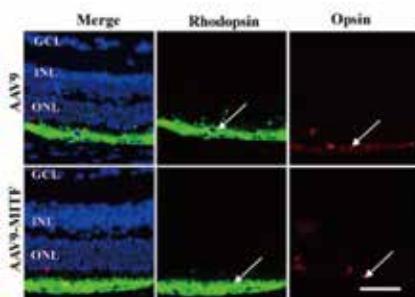
特异性	心肌细胞
启动子	cTNT
杂志	J Pineal Res
发布时间	2020
影响因子/分区	14.528/Q1

9



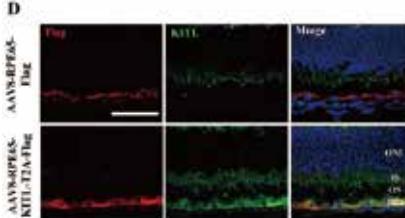
特异性	肝脏
启动子	hSyn,CaMKIIa
杂志	J Clin Invest
发布时间	2020
影响因子/分区	11.864/Q1

10



特异性	视网膜细胞
启动子	RPE65
杂志	Redox Biology
发布时间	2020
影响因子/分区	9.986/Q1

11



特异性	视网膜细胞
启动子	RPE65
杂志	eLife
发布时间	2020
影响因子/分区	7.08/Q1

AAV病毒常见问题解答Q&A

AAV 检测周期是多长？

AAV一般注射动物后，会在1-2周左右开始表达，体内实验一般建议感染后3-4周看第一批结果。持续时间可以长达两年以上。在体内，细胞的生存周期会很长，特别是一些神经元细胞。所以只要细胞不死，AAV基本会一直发挥作用。

AAV 病毒能构建的目的基因长度？

AAV所能承载的目的基因大小跟载体元件的结构有关，一般包括必须的启动子、目的片段、荧光或者标签元件。我们推荐的过表达载体GV388，可容纳1.2 kb的外源片段。而最大的过表达载体，可容纳最多2.8 kb的外源片段，由于干扰序列普遍长度较小，所以一般不受载体容量的限制。

AAV 目前主要应用在哪些方面？

AAV在体外感染效果不理想，目前主要用于体内实验。AAV比LV或AdV更适合做体内实验的原因：免疫原性低、颗粒小扩散范围广、对各种细胞的感染效果好。AAV的生产滴度可以很高，常见滴度在 $1E+12\text{-}13 \text{ v.g./ml}$ 左右，在一些情况下可以做到 $1E+14 \text{ v.g./ml}$ ，满足注射动物的剂量。

冰冻切片发现组织碎片很多、或者切片发现组织有洞？

首先，可能是组织在处理的时候，在多聚甲醛中浸泡的时间过长，或者是组织在处理过程中没有全程在PBS中浸泡，还可能是组织在-80 °C冰箱中贮存的时间太久，这些原因都会使组织变脆，变干，缩小，产生空洞。其次，可能组织没有在切片前复温30 min，组织冻的太硬，会使切片产生碎片。

发现切片后的背景很高、或者出现许多异常明亮的亮点？

背景很高的原因主要是组织太干，一方面可能是由于在多聚甲醛中浸泡的时间太久，另一方面可能是由于切片后组织晾的太干燥，一些背景可以通过适当的图片的后期处理解决。明亮的亮点可能是PBS没有过滤就用来洗片子，里面有杂质，或者是镜头上面的杂质，有些亮点可能也与组织本身的结构有关。

为何有时病毒在体实验的感染效率不理想？

首先，如果您实验用的病毒的在体实验感染和表达效果没那么好，我们推荐您可以再多找几篇相关的文献，多看看这几篇文献中相关的病毒的用量、注射方法、注射位点等详细信息，再多摸索一下实验条件，改变一下病毒的注射方法和用量等。因为感染效率不好，很多情况下，并不是病毒本身的原因，而是由于实验操作步骤、注射位点、或者注射方法的问题导致的，经过一段时间的摸索，可以得到比较好的结果。其次，生物体内的环境非常复杂，在病毒感染细胞后，可能病毒可以很好的感染细胞，但受到各种各样体内调控因素的影响，导致病毒携带的外源基因不表达，或者表达的水平不够高。而在细胞系或者提取的原代细胞上，由于去除了体内复杂的影响因素，病毒的感染和表达相对会比较好。

| 吉凯AAV的定制服务及现货列表

AAV 载体列表

调控方式	使用频率	载体编号	元件顺序	载体容量 (bp)	荧光标记	荧光融合表达
过表达	高	GV388	CMV bGlobin-MCS-EGFP-3FLAG-WPRE-hGH polyA	1700	EGFP	是
	中	GV389	CMV bGlobin-MCS-mCherry-3FLAG-WPRE-hGH polyA	1700	mCherry	是
	高	GV411	CMV-betaGlobin-MCS-3Flag-SV40 PolyA	3300	无	-
	高	GV461	CMV-betaGlobin-MCS-SV40 PolyA	3400	无	-
	高	GV466	hSyn promoter-MCS-EGFP-3FLAG-SV40 PolyA	2700	EGFP	是
	中	GV467	CMV-betaGlobin-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2600	EGFP	是
	中	GV497	CMV bGlobin-FLEX-MCS-WPRE-hGH polyA	2200	无	-
	中	GV506	CMV bGlobin-FLEX-MCS-EGFP-WPRE-hGH polyA	1700	EGFP	是
	中	GV571	cTNTp-MCS-3Flag-T2A-EGFP	2700	EGFP	否
	中	GV577	Iba1p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV578	MCKp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2200	EGFP	是
	中	GV579	PDX1p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2600	EGFP	是
	中	GV580	mNkx2.5p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV581	c-fos promoter-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2200	EGFP	是
	中	GV582	MYOGp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2200	EGFP	是
	中	GV583	TIEp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV584	mRUNX2p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2500	EGFP	是
	中	GV585	FABP4p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	1900	EGFP	是
	中	GV586	COL2A1p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV587	CNPp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	1900	EGFP	是
	中	GV588	ACTA1p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV589	mecp2p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	3300	EGFP	是
	中	GV590	rpe65p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2800	EGFP	是
	中	GV595	TUBA1Ap-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV596	Slc6a3p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV597	SM22ap-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	3000	EGFP	是
	中	GV598	SP-Cp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	3200	EGFP	是
	中	GV599	TBgp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	3100	EGFP	是

调控方式	使用频率	载体编号	元件顺序	载体容量 (bp)	荧光标记	荧光融合表达
过表达	中	GV600	pAAV-VGATp-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	1700	EGFP	是
	中	GV601	K14p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	1900	EGFP	是
	中	GV602	CaMKIIap-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	2200	EGFP	是
	中	GV603	TBGP-EGFP-MCS-SV40 PolyA	3100	EGFP	是
	中	GV607	rpe65p-MCS-SV40 PolyA	3900	无	-
	中	GV624	ACTA1p-MCS-3Flag-SV40 PolyA	3300	无	-
	中	GV625	TBGP-MCS-3Flag-SV40 PolyA	4100	无	-
	中	GV626	Iba1p-EGFP-MCS-SV40 PolyA	2300	EGFP	是
	中	GV629	TIEp-EGFP-MCS-SV40 PolyA	2600	EGFP	是
	中	GV630	CNPP-MCS-SV40 PolyA	3100	无	-
	中	GV636	PDX1p-EGFP-MCS-SV40 PolyA	2700	EGFP	是
	中	GV637	PDX1p-MCS-SV40 PolyA	3400	无	-
	中	GV650	pAAV-F4/80p-MCS-EGFP-3Flag-SV40 PolyA	3200	EGFP	是
	中	GV690	SM22ap-EGFP-MCS-SV40 PolyA	3000	EGFP	是
	中	GV697	GFAP-MCS-EGFP-TK PolyA	1800	EGFP	是
干扰	高	GV478	U6-MCS-CAG-EGFP	10000	EGFP	否
	高	GV480	U6-MCS-CAG-mCherry	10000	Cherry	否
	中	GV681	TBGP-EGFP-MIR155(MCS)-SV40 PolyA	10000	EGFP	否
	中	GV700	CaMKIIap-EGFP-MIR155(MCS)-SV40 PolyA	10000	EGFP	否
	中	GV706	SM22ap-EGFP-mir155(MCS)-SV40 PolyA	3000	EGFP	否
	中	GV718	CMV bGlobin-FLEX-EGFP-MIR155(mcs)-WPRE-hGH polyA		EGFP	否
microRNA-up	高	GV412	CMV bGlobin-EGFP-MCS-WPRE-hGH polyA	1800	EGFP	否
microRNA-down	中	GV462	CMV bGlobin-EGFP-MCS-WPRE-hGH polyA	1800	EGFP	否
	中	GV463	CMV bGlobin-Cherry-MCS	1800	mCherry	否
	高	GV479	U6-MCS-CAG-EGFP	900	EGFP	否
	高	GV481	U6-MCS-CAG-mCherry	900	mCherry	否
CAS9	高	GV487	CMV-NLS-SaC9-NLS-3xHA-bGHpA-U6-sgRNA	10000	无	-

AAV 现货列表

产品类型	载体编号	元件顺序	启动子	功能元件	荧光	表达方式
彩虹装	AAV1000001QT	pAAV-125689DJ-TEST-KIT	CMV	125689DJ	EGFP	正常表达
彩虹装	AAV1000002QT	pAAV-19RetroPHPeB-TEST-KIT	CMV	19RetroPHPeB	EGFP	正常表达
彩虹装	AAV1000003QT	pAAV-289DJ-TEST-KIT	CMV	289DJ	EGFP	正常表达
彩虹装	AAV1000004QT	pAAV-1689-TEST-KIT	CMV	1689	EGFP	正常表达
钙指示剂	AAV00032	pAAV-hSyn1-GCaMP6s-P2A-nls-dTomato	hSyn	GCaMP6s	tdTomato	正常表达
钙指示剂	AAV00041	pAAV-CAG-Flex-GCaMP6(S)	CAG	GCaMP6s	无	正常表达
钙指示剂	AAV00044	pAAV-CMV-GCaMP6(F)	CMV	GCaMP6f	无	正常表达
钙指示剂	AAV00045	pAAV-CMV-bGlobin-GCaMP6(S)-3Flag	CMV	GCaMP6s	无	正常表达
钙指示剂	AAV00053	pAAV-hSyn-GCaMP6s	hSyn	GCaMP6s	无	正常表达
钙指示剂	AAV00054	pAAV-hSyn-GCaMP6(F)	hSyn	GCaMP6f	无	正常表达
钙指示剂	AAV00058	pAAV-hSyn1-mRuby2-GSG-P2A-GCaMP6f-WPRE-pA	hSyn	GCaMP6f	mRuby2	正常表达
钙指示剂	AAV00059	pAAV-hSyn1-mRuby2-GSG-P2A-GCaMP6s-WPRE-pA	hSyn	GCaMP6s	mRuby2	正常表达
钙指示剂	AAV00063	pAAV-hSyn-Flex-GCaMP6f	hSyn	GCaMP6f	无	Cre依赖表达
钙指示剂	AAV00064	pAAV-hSyn-Flex-GCaMP6s	hSyn	GCaMP6s	无	Cre依赖表达
钙指示剂	AAV00067	pAAV-hSyn1-GCaMP6f-P2A-nls-dTomato	hSyn	GCaMP6f	tdTomato	正常表达
钙指示剂	AAV00068	pAAV-CaMKIIa-GCaMP6f-P2A-nls-dTomato	CaMKIIa	GCaMP6f	tdTomato	正常表达
钙指示剂	AAV00073	pAAV-CaMKIIa-GCaMP6f	CaMKIIa	GCaMP6f	无	正常表达
钙指示剂	AAV00074	pAAV-CaMKIIa-GCaMP6s	CaMKIIa	GCaMP6s	无	正常表达
钙指示剂	AAV00075	pAAV-CaMKIIa-GCaMP6s-P2A-nls-dTomato	CaMKIIa	GCaMP6s	tdTomato	正常表达
钙指示剂	AAV00092	pAAV-EF1a-DIO-GCaMP6f-P2A-nls-dTomato	EF1a	GCaMP6f	tdTomato	Cre依赖表达
钙指示剂	AAV00094	pAAV-EF1a-DIO-GCaMP6s-P2A-nls-dTomato	EF1a	GCaMP6s	tdTomato	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00001	pAAV-Ef1a-DO-hChR2(H134R)-mCherry-WPRE	EF1a	ChR2	mCherry	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00002	pAAV-Ef1a-DIO-ChETA-EYFP	EF1a	ChETA	EYFP	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00003	pAAV-hSyn-hChR2(H134R)-mCherry	hSyn	ChR2(H134R)	mCherry	正常表达
光遗传抑制	AAV00004	pAAV-hSyn-eNpHR 3.0-EYFP	hSyn	eNpHR3.0	EYFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00006	pAAV-FLEX-Arch-GFP	是	Arch	GFP	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00008	pAAV-EF1a-double floxed-hChR2(H134R)-EYFP-WPRE-HGHpA	是	ChR2(H134R)	EYFP	Cre依赖表达
光遗传抑制	AAV00010	pAAV-double floxed-eNpHR-EYFP-WPRE-pA	是	eNpHR	EYFP	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00011	pAAV-CAG-ChR2-GFP	CAG	ChR2	GFP	正常表达

产品类型	载体编号	元件顺序	启动子	功能元件	荧光	表达方式
光遗传激活	AAV00012	pAAV-CaMKIIa-hChR2(H134R)-EYFP	CaMKIIa	ChR2(H134R)	EYFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00013	pAAV-CaMKIIa-eNpHR 3.0-EYFP	CaMKIIa	eNpHR3.0	EYFP	正常表达
光遗传激活	AAV00014	pAAV-hSyn-hChR2(H134R)-EYFP	hSyn	ChR2(H134R)	EYFP	正常表达
光遗传激活	AAV00015	pAAV-GFAP-hChR2(H134R)-EYFP	GFAP	ChR2(H134R)	EYFP	正常表达
光遗传激活	AAV00018	pAAV-CAG-hChR2-H134R-tdTomato	CAG	ChR2(H134R)	tdTomato	正常表达
光遗传抑制	AAV00020	pAAV-FLEX-ArchT-tdTomato	是	ArchT	tdTomato	Cre依赖表达
光遗传抑制	AAV00021	pAAV-FLEX-ArchT-GFP	是	ArchT	GFP	Cre依赖表达
光遗传抑制	AAV00022	pAAV-CAG-ArchT-GFP	CAG	ArchT	GFP	正常表达
光遗传激活	AAV00023	pAAV-Ef1a-DIO-C1V1 (t/t)-TS-EYFP	是	C1V1 (t/t)	EYFP	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00024	pAAV-Ef1a-DIO-C1V1 (t/t)-TS-mCherry	是	C1V1 (t/t)	mCherry	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00025	pAAV-CaMKIIa-C1V1 (t/t)-TS-EYFP	CaMKIIa	C1V1 (t/t)	EYFP	正常表达
光遗传激活	AAV00026	pAAV-CaMKIIa-C1V1 (t/t)-TS-mCherry	CaMKIIa	C1V1 (t/t)	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00027	pAAV-CaMKIIa-hChR2(E123A)-EYFP	CaMKIIa	hChR2(E123A)	EYFP	正常表达
光遗传激活	AAV00028	pAAV-CaMKIIa-hChR2(E123A)-mCherry	CaMKIIa	hChR2(E123A)	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00029	pAAV-CaMKIIa-hChR2(E123T/T159C)-mCherry	CaMKIIa	ChR2(E123T/T159C)	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00033	pAAV-Syn-ChrimsonR-GFP	hSyn	Chrimson	GFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00034	pAAV-CaMKII-Jaws-KGC-GFP-ER2	CaMKIIa	Jaws	GFP	正常表达
光遗传激活	AAV00035	pAAV-Syn-FLEX-rc[ChrimsonR-tdTomato]	hSyn	ChrimsonR	tdTomato	正常表达
光遗传抑制	AAV00036	pAAV-Ef1a-DIO-eNpHR 3.0-EYFP	是	eNpHR3.0	EYFP	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00037	pAAV-EF1a-double floxed-hChR2(H134R)-mCherry-WPRE-HGhpA	是	ChR2(H134R)	mCherry	Cre依赖表达
光遗传激活	AAV00038	pAAV-GFAP-hChR2(H134R)-mCherry	是	ChR2(H134R)	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00039	pAAV-CaMKIIa-hChR2(H134R)-mCherry	CaMKIIa	ChR2(H134R)	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00051	pAAV-CaMKIIa-ChR2-mCherry	CaMKIIa	ChR2	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00060	pAAV-hSyn-ChR2-mcherry	hSyn	ChR2	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00072	pAAV-CaMKIIa-hChR2(E123T/T159C)-EYFP	CaMKIIa	ChR2(E123T/T159C)	EYFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00076	pAAV-CaMKII-Mac-GFP	CaMKIIa	Mac	GFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00078	pAAV-Syn-FLEX-Mac-GFP	hSyn	Mac	GFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00079	pAAV-CAMKII-eNpHR3.0-mCherry	CaMKIIa	eNpHR3.0	mCherry	正常表达
光遗传激活	AAV00080	pAAV-EF1a-DIO-hChR2(E123A)-eYFP	是	hChR2(E123A)	EYFP	Cre依赖表达
光遗传抑制	AAV00095	pAAV-CaMKIIa-eNpHR 3.0-Irfp-WPRE	CaMKIIa	eNpHR3.0	Irfp	正常表达

产品类型	载体编号	元件顺序	启动子	功能元件	荧光	表达方式
光遗传激活	AAV00097	pAAV-Syn-ChR2(H134R)-GFP	hSyn	ChR2(H134R)	GFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00098	pAAV-CaMKIIa-eArchT3.0-P2A-EGFP	CaMKIIa	eArchT3.0	GFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00102	pAAV-CaMKIIa-eArch 3.0-EYFP	CaMKIIa	eArchT3.0	EYFP	正常表达
光遗传抑制	AAV00104	pAAV-hSyn-eArchT3.0-P2A-EGFP	hSyn	eArchT3.0	GFP	正常表达
化学遗传激活	AAV00030	pAAV-hSyn-DIO-hM3D(Gq)-mCherry	hSyn	hM3D(Gq)	mCherry	Cre依赖表达
化学遗传抑制	AAV00031	pAAV-hSyn-DIO-hM4D(Gi)-mCherry	hSyn	hM4D(Gi)	mCherry	Cre依赖表达
化学遗传激活	AAV00071	pAAV-hSyn-DIO-hM3D(Gq)-eGFP	hSyn	hM3D(Gq)	GFP	Cre依赖表达
化学遗传激活	AAV00085	pAAV-EF1a-DIO-hM3D(Gq)-mCherry	是	hM3D(Gq)	mCherry	Cre依赖表达
化学遗传抑制	AAV00087	pAAV-EF1a-DIO-hM4D(Gi)-mCherry	是	hM4D(Gi)	mCherry	Cre依赖表达
化学遗传抑制	AAV00088	pAAV-GFAP-hM4D(Gi)-mcherry	是	hM4D(Gi)	mCherry	正常表达
化学遗传激活	AAV00090	pAAV-GFAP-hM3D(Gq)-mcherry	是	hM3D(Gq)	mCherry	正常表达
化学遗传抑制	AAV00093	pAAV-hSyn-HA-hM4D(Gi)-IRES-mCitrine	hSyn	hM4D(Gi)	mCitrine	正常表达
化学遗传激活	AAV00096	pAAV-hSyn-HA-hM3D(Gq)-IRES-mCitrine	hSyn	hM3D(Gq)	mCitrine	正常表达
化学遗传抑制	AAV00099	pAAV-hSyn-DIO-hM4D(Gi)-EGFP	hSyn	hM4D(Gi)	GFP	Cre依赖表达
化学遗传抑制	AAV00100	pAAV-hSyn-hM4D(Gi)-mCherry	hSyn	hM4D(Gi)	mCherry	正常表达
化学遗传抑制	AAV00101	pAAV-CaMKIIa-DIO-hM4D(Gi)-eGFP	CaMKIIa	hM4D(Gi)	GFP	Cre依赖表达
神经环路标记示踪	HSVhpA663GFP	pAAV-EF1a-DIO-Tk-2A-GFP	是	TK	GFP	Cre依赖表达
神经环路标记示踪	HSVhpA664tdT	pAAV-EF1a-DIO-Tk-2A-tdT	是	TK	tdTomato	Cre依赖表达
神经环路标记示踪	HSVhpA665GFP	pAAV-EF1a-Tk-2A-GFP	是	TK	GFP	正常表达
神经环路标记示踪	HSVhpA666tdT	pAAV-EF1a-Tk-2A-tdT	是	TK	tdTomato	正常表达
荧光	AAV00005	pAAV-EF1a-DIO-mCherry-WPRE	是	mCherry	mCherry	Cre依赖表达
荧光	AAV00007	pAAV-EF1a-double floxed-EYFP-WPRE-HGHpA	是	EYFP	EYFP	Cre依赖表达
荧光	AAV00009	pAAV-EF1a-double floxed-mCherry-WPRE-HGHpA	是	mCherry	mCherry	Cre依赖表达
荧光	AAV00016	pAAV-Ef1a-DIO-EYFP	是	EYFP	EYFP	Cre依赖表达
荧光	AAV00017	pAAV-CAG-GFP	CAG	GFP	GFP	正常表达
荧光	AAV00019	pAAV-FLEX-GFP	是	GFP	GFP	Cre依赖表达
荧光	AAV00042	pAAV-CaMKIIa-eYFP	CaMKIIa	EYFP	EYFP	正常表达
荧光	AAV00046	pAAV-EF1a-mCherry	是	mCherry	mCherry	Cre依赖表达
荧光	AAV00047	pAAV-hSyn-EYFP-3Flag	是	EYFP	EYFP	正常表达
荧光	AAV00049	pAAV-CMV bGlobin-eGFP	CMV	GFP	GFP	正常表达

产品类型	载体编号	元件顺序	启动子	功能元件	荧光	表达方式
荧光	AAV00050	pAAV-CMV bGlobin-mCherry	CMV	mCherry	mCherry	正常表达
荧光	AAV00052	pAAV-hSyn-mCherry	hSyn	mCherry	mCherry	正常表达
荧光	AAV00057	pAAV-hSyn-EGFP	hSyn	GFP	GFP	正常表达
荧光	AAV00061	pAAV-hSyn-DIO-mCherry	hSyn	mCherry	mCherry	Cre依赖表达
荧光	AAV00062	pAAV-hSyn-FLEX-eGFP	hSyn	GFP	GFP	Cre依赖表达
荧光	AAV00065	pAAV-hSyn-LUC	hSyn	LUC	LUC	正常表达
荧光	AAV00066	pAAV-hSyn-mCherry-3Flag	hSyn	mCherry	mCherry	正常表达
荧光	AAV00069	pAAV-GFAP-mCherry	是	mCherry	mCherry	正常表达
荧光	AAV00070	pAAV-gfaABC1D-eGFP	是	GFP	GFP	正常表达
荧光	AAV00077	pAAV-hSyn-tdTomato	hSyn	tdTomato	tdTomato	正常表达
荧光	AAV00082	pAAV-hSyn-eGFP-3Flag	hSyn	GFP	GFP	正常表达
荧光	AAV00083	pAAV-CaMKIIa-EGFP	CaMKIIa	GFP	GFP	正常表达
荧光	AAV00084	pAAV-CaMKIIa-mCherry	CaMKIIa	mCherry	mCherry	正常表达
荧光	AAV00086	pAAV-pCAG-FLEX-tdTomato-WPRE	CAG	tdTomato	tdTomato	Cre依赖表达
荧光	AAV00089	pAAV-hSyn-FLEX-tdTomato	hSyn	tdTomato	tdTomato	Cre依赖表达
荧光	AAV00091	pAAV-CAG-tdTomato	CAG	tdTomato	tdTomato	正常表达
荧光	AAV00106	pAAV-CMV-bGlobin-LUC	CMV	LUC	LUC	正常表达
重组酶	AAV00040	pAAV-CAG-EGFP-T2A-Cre	CAG	Cre	GFP	正常表达
重组酶	AAV00043	pAAV-CaMKIIa-GFP-2A-Cre	CaMKIIa	Cre	GFP	正常表达
重组酶	AAV00048	pAAV-Syn-Cre	hSyn	Cre	无	正常表达
重组酶	AAV00055	pAAV-CMV bGlobin-Cre-eGFP	CMV	Cre	GFP	正常表达
重组酶	AAV00056	pAAV-hSyn-Cre-EGFP	hSyn	Cre	GFP	正常表达
重组酶	AAV00103	pAAV-pmSyn1-EBFP-Cre	hSyn	Cre	EBFP	正常表达

更多 AAV 现货产品，
可扫码登陆“淘基因”小程序查询



吉凯基因企业简介

客户发布文章

合作单位

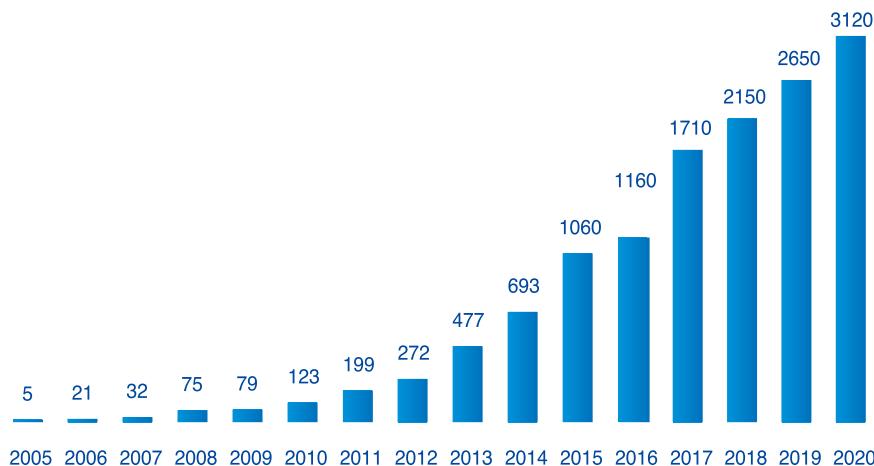
吉凯基因工程化服务平台

吉凯基因公开课

| GRP平台已经在研究型医生发表的13000篇关于靶标发现的科学论文中，发挥了重要作用



- 研究型医生是提升患者5年生存率和生活质量研究的主力军。但他们的日常门诊、手术等临床工作，已经让他们当中的绝大多数人长期超负荷运转；
- 19年来，吉凯秉承“让研究型医生将有限的时间最大限度投入到只有他们自己才能完成的实验中，那些被吉凯工程化的实验，交给吉凯做”的宗旨，助力医生/科学家开展的基础研究成果一发表SCI文章累计超过13000篇；每一个研究，都让靶标发现被向前推进一步；



IF值>10

277篇

5<IF值≤10
2489篇

3<IF值≤5
29%

1<IF值≤3
49%

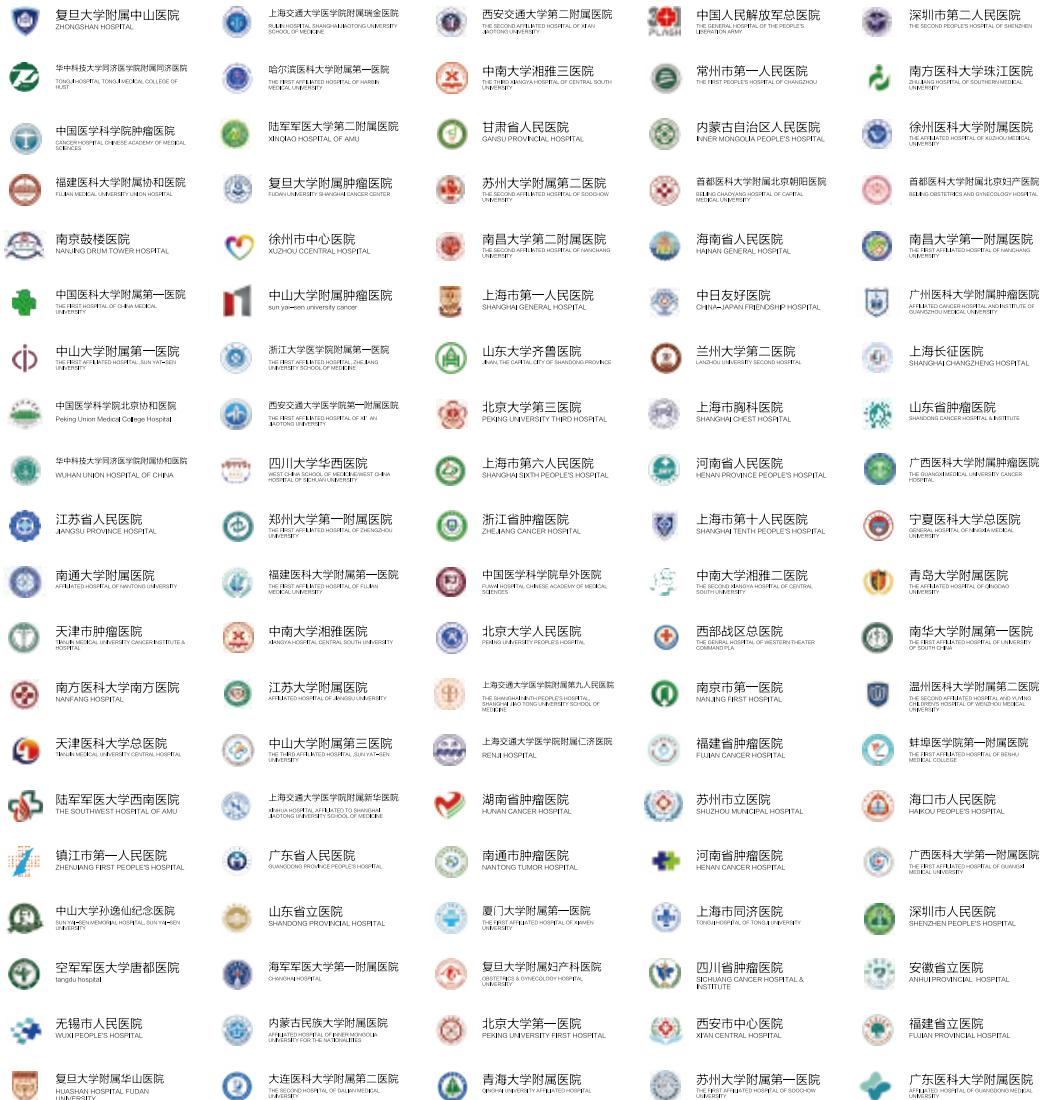
IF值≤1
4%

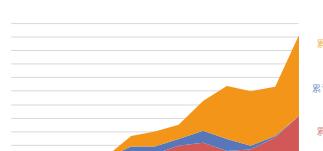
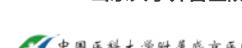
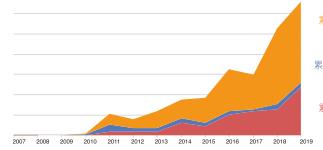
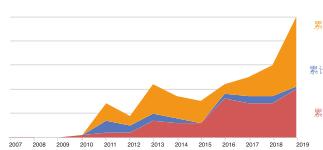
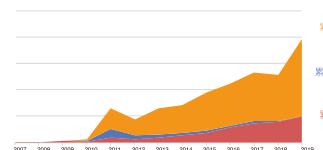
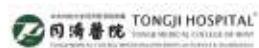
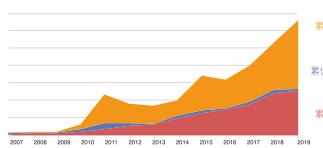
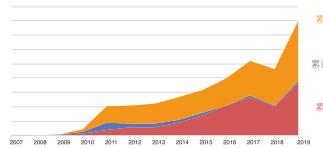
代表性CNS论文

	论文题目	杂志	IF值	客户单位	通讯作者
1	Identification of genomic alterations in oesophageal squamous cell cancer	Nature	38.597	中国医学科学院	詹启敏(院士)
2	Essential role of TRPC channels in the guidance of nerve growth cones by brain-derived neurotrophic factor	Nature	38.597	中国科学院神经研究所	王以政
3	A nuclear function of beta-arrestin1 in GPCR signaling: regulation of histone acetylation and gene transcription	Cell	31.957	中科院、复旦大学	裴刚(院士) 马兰(院士)
4	Negative feedback-defective PRPS1 mutants drive thiopurine resistance in relapsed childhood ALL	Nature Medicine	28.054	上海交通大学附属儿童医学中心	周斌
5	CAPON-nNOS coupling can serve as a target for developing new anxiolytics	Nature Medicine	28.054	南京医科大学	朱东亚
6	Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation	Nature genetics	27.959	北京协和医学院肿瘤研究所	林东昕(院士)
7	Treatment of cerebral ischemia by disrupting ischemia-induced interaction of nNOS with PSD-95	Nature Medicine	27.136	南京医科大学	朱东亚
8	Genetically encoded fluorescent sensors reveal dynamic regulation of NADPH metabolism	Nature Methods	25.062	华东理工大学	杨弋
9	The metabolic ER stress sensor IRE1 α suppresses alternative activation of macrophages and impairs energy expenditure in obesity	Nature Immunology	21.506	中国科学院营养所	段胜仲, 刘勇
10	The lectin Siglec-G inhibits dendritic cell cross-presentation by impairing MHC class I-peptide complex formation	Nature Immunology	21.506	浙江大学	曹雪涛(院士)

| GRP平台

服务300+研究型医院，遍及全国各地





| 吉凯基因工程化服务平台



基因组	转录组	蛋白质组
<ul style="list-style-type: none">■ Cancer panel■ Whole genome sequencing■ Whole exon sequencing■ MassARRAY	<ul style="list-style-type: none">■ Gene expression microarray■ miRNA microarray■ LncRNA microarray■ Single cell sequencing	<ul style="list-style-type: none">■ SILAC■ iTRAQ■ WES■ Tissue Microarray



组学分析	IPA分析	跨组学联合分析
<ul style="list-style-type: none">■ Genomics■ Transcriptomics■ Proteomics	<ul style="list-style-type: none">■ Signal transduction■ Molecular interaction■ Network analysis■ Metabolism pathway■ Multiple network analysis■ Target prediction	<ul style="list-style-type: none">■ Genomics vs Transcriptomics■ Genomics vs Proteomics■ microRNA vs mRNA



基因敲除/敲入	基因过表达	基因沉默
<ul style="list-style-type: none">■ Lenti-Cas9-Custom™■ Lenti-Cas9-Easy™■ Lenti-Cas9-SAM™	<ul style="list-style-type: none">■ Lenti-cDNA™■ Lenti-miR-up™■ Adv-cDNA™■ Adv-miR-up™■ AAV-cDNA™■ AAV-miR-up™	<ul style="list-style-type: none">■ Lenti-shRNA™■ Lenti-miR-down™■ Adv-shRNA™■ Adv-miR-down™■ AAV-shRNA™■ AAV-miR-down™



细胞增殖能力检测	细胞转移/侵袭能力检测	细胞功能高通量筛选	分子机制分析
<ul style="list-style-type: none">■ MTT/MTS/CCK8/BrdU/Edu■ Annexin V apoptosis detection■ Cell cycle analysis (PI staining)■ Colony formation (2D/3D)	<ul style="list-style-type: none">■ Transwell Cell Migration■ Wound scratch■ EMT marker analysis	<ul style="list-style-type: none">■ Cell proliferation■ Cell migration	<ul style="list-style-type: none">■ Patharray■ Antibody microarrays■ Co-IP■ IPA Pathway Analysis



肿瘤模型	CRISPR/Cas9 转基因动物
<ul style="list-style-type: none">■ Subcutaneous■ Orthotopic■ Syngenic	<ul style="list-style-type: none">■ KO mice■ Conditional KO mice

10,000名科研人都在学习的 8大精品直播课

免费网络
视频课程

从国自然热点研究—课题设计—工具病毒产品选择—实验操作轻松搞定

扫码或添加微信号
GeneChemV

- 免费获取PPT及文献资料包
- 无限次免费观看课程
- 更有专业讲师群内实时答疑



· 热门课程主题 ·

01. 诺奖技术『基因编辑』的研究应用

02. 国自然热点——非编码RNA的研究策略与方法

03. 国自然热点『环状RNA研究』之实验设计及功能验证

04. 临床医生如何做好科研？——23分心血管顶刊文章这样出炉

05. 如何利用『过表达、RNAi、基因编辑』有效调控基因表达

06. 细胞实验中如何用好『慢病毒』？！

07. 神经环路的研究策略及工具选择

08. 教会您如何用好腺相关病毒AAV

近20年病毒包装经验，年产病毒上万次
慢病毒、AAV、腺病毒、逆转录病毒、HSV等



买病毒 上淘基因

多·快·好·省

吉凯淘基因小程序激活流程

淘基因小程序



做基因,找吉凯
更多优惠,扫码获取

1

微信小程序搜索【淘基因】
或关注【吉凯基因】公众号点击底部：淘基因



慢病毒

腺病毒

买病毒 上淘基因

吉凯商城账户激活流程：

第一步：微信小程序搜索【淘基因】；

或者关注【吉凯基因】公众号点击底部：淘基因

第二步：进入小程序后，点击【我的】

第三步：点击顶部的【注册/登录】，授权手机号后填写个人信息完成注册

2

进入小程序后，点击【我的】

3

点击顶部的【注册/登录】，
授权手机号后填写个人信息完成注册



腺相关病毒

质粒

试剂耗材等



| 联系地址：上海张江高科技园区爱迪生路326号

客服电话：400-621-0302

www.genechem.com.cn