

悬浮细胞专用病毒筛选试剂盒操作说明

■ 产品信息

产品中文名称：悬浮细胞专用病毒筛选试剂盒

产品组成	货号	储存浓度	产品规格
Lentivirus (LV-GFP)	GCCL64300000QA	>1E+08TU/mL, 详见标签	50 μ Lx2
Retrovirus (RV-GFP)	GCCL26700000QA	>1E+08TU/mL, 详见标签	50 μ Lx2
感染增强液HiTransB-1	REVG006	25X	1mL
感染增强液HiTransB-2	REVG007	25X	1mL

储存条件：病毒-80 $^{\circ}$ C低温保存；试剂4~8 $^{\circ}$ C低温保存

运输方式：低温干冰运输

■ 产品介绍

慢病毒^{悬浮细胞专用}

慢病毒(Lentivirus)载体是以人类免疫缺陷型病毒(HIV)为基础发展起来的基因治疗载体，它对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力，可以在体内较长期的表达且安全性高。吉凯基因提供的悬浮细胞专用慢病毒是以慢病毒载体为基础改造而来，可以高效感染普通方法难以感染的血液类细胞。

逆转录病毒^{悬浮细胞专用}

逆转录病毒 (Retrovirus)，又称为反转录病毒，是RNA病毒的一种。吉凯基因提供的逆转录病毒载体为兼嗜性载体，既能感染小鼠细胞，也能感染其他种属动物的细胞。该载体以MMLV逆转录病毒载体为基础改造而来，可特异性感染淋巴细胞和造血细胞。

感染增强液^{悬浮细胞专用}

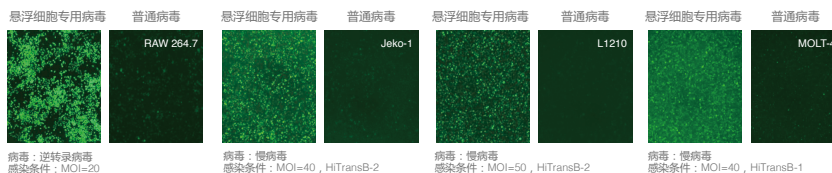
HiTransB-1是针对悬浮细胞研制的病毒感染增强液，可促进病毒高效感染细胞，且对细胞毒性极低，适合敏感细胞使用。HiTransB-2在HiTransB-1基础上添加了一种阳离子聚合物，通过抑制细胞膜与病毒之间的电荷排斥，显著增加慢病毒对细胞的感染效率。

本产品由吉凯经40余株血液细胞感染测试优化。但由于不同细胞对病毒和感染试剂的耐受性不同，建议初次使用本产品时，设置慢病毒、逆转录病毒及HiTransB-1、HiTransB-2平行对照组，以便选择最适合您细胞的感染组合。

■ 产品介绍

- 针对悬浮细胞改造的专用病毒
- 经40余株血液细胞感染测试优化
- 配合HiTransB感染增强液，可显著提高病毒感染能力，且细胞毒性极低，适合敏感细胞使用

■ 数据示例



■ 使用方法

病毒颗粒的储存与稀释

收到病毒液后，如需长期保存则分装后存放于 -80°C ，避免反复冻融，否则会降低病毒滴度。正常保存条件下，病毒可以存放于 -80°C 稳定保存12个月。如存放超过12个月，需要重新检测病毒滴度。

使用病毒时，请将病毒从 -80°C 冰箱取出，冰浴融化。如实验需要，可在实验前用无血清培养基稀释病毒，稀释后的病毒请立即使用，不建议再分装冻存。

悬浮细胞感染实验（建议在96孔或48孔板中测试试用装效果）

Day1：接种细胞和病毒感染

1.用完全培养基制备密度为 1×10^5 个/mL的细胞悬液（根据细胞自身特性可能需要调整密度），根据表1接种对应的细胞数到培养板中，并加入相应感染增强液。

*感染条件可参考附录。如未在附录中查询到您的细胞，请在初次感染时设置慢病毒、逆转录病毒及HiTransB-1、HiTransB-2平行对照组，以便选择最适合您细胞的感染组合。

2.参考附录细胞MOI值，加入病毒进行感染，计算公式：病毒体积=(MOI×细胞数目)/病毒滴度；

3. 将培养板置于低速离心机中，2000rpm，室温离心5min；

4. 将培养板置于 37°C ，5% CO_2 培养箱中继续培养；

Day2-3：换液和继续培养

病毒感染12-20 h后，换回常规培养基，继续培养；

Day4：确认感染效果

感染后约72 h，显微镜下观察GFP表达情况，判断感染效果；

表1 不同细胞培养体系推荐用量

细胞培养容器	单孔底面积	正常培养体积	感染时体积	感染试剂每孔用量
96孔板	0.3cm ²	100μL	100μL	4μL
48孔板	0.6cm ²	200μL	200μL	8μL
24孔板	2cm ²	500μL	500μL	20μL
12孔板	4cm ²	1mL	500μL	20μL
6孔板	10cm ²	2mL	1mL	40μL
T25瓶	25cm ²	5mL	2.5mL	100μL

注：减少感染时的细胞培养体积可以增加感染效率，但也可能增加细胞毒性。如出现细胞毒性可扩大感染时的培养体积或减少病毒孵育时间，及时更换新鲜培养基。

■ 常见问题与解决方案

问题	可能原因	解决方案
感染效果不明显	病毒用量不够	加大病毒用量
	细胞密度过大	减少细胞密度
	感染液增强不明显	增大试剂用量1倍
细胞毒性	增强液用量过大	适当减少增强液用量
	病毒用量过大	适当减少病毒用量
	感染时采用了较少的细胞培养体积	扩大感染时的培养体积或减少病毒孵育时间
增强液出现沉淀	溶解度变化，成分析出	室温静置过夜，即可溶解完全，可以继续使用

■ 附录：常见血液悬浮细胞MOI和感染条件

*以下细胞株均来自吉凯基因细胞库。由于不同实验室细胞代数、状态不同，MOI值存在一定差异，以下数据仅供参考。

疾病类型	细胞系	中文名	病毒	MOI	感染试剂
ALL	CCRF-CEM	人急性淋巴细胞白血病T淋巴细胞	逆转录病毒	50	B-2
	HuT 78	人T淋巴细胞白血病细胞	慢病毒	20	B-1
	Jurkat	人T淋巴细胞白血病细胞	慢病毒	20	B-2
	MOLT-4	人急性淋巴细胞白血病细胞	慢病毒	40	B-1
	Daudi	人Burkitt's淋巴瘤细胞	逆转录病毒	30	B-2
	Reh	人急性非B非T淋巴细胞白血病	慢病毒	30	B-1
AML	NB4	人早幼粒白血病细胞	慢病毒	50	B-2
	THP-1	人单核细胞白血病	慢病毒	30	B-1
	HL-60	人骨髓细胞白血病细胞	慢病毒	30	B-2
	HEL	人红白细胞白血病细胞	慢病毒	30	B-1
CML	K-562	人慢性髓原白血病细胞	慢病毒	30	B-2

疾病类型	细胞系	中文名	病毒	MOI	感染试剂
Acute T Cell Leukemia	I 2.1	人急性T淋巴细胞白血病细胞	慢病毒	30	B-2
Basophilic Leukemia	RBL-2H3	大鼠嗜碱性细胞白血病细胞	慢病毒	40	B-1
Hairy Cell Leukemia	Mo [Mo T]	人毛细胞白血病细胞	慢病毒	20	B-1
Leukemia	OKT 11	小鼠B淋巴细胞 小鼠淋巴瘤细胞	逆转录病毒	50	B-2
Lymphocytic Leukemia	L1210	小鼠白血病细胞	慢病毒	50	B-2
Myelomonoblastic Leukemia	CESS	人急性髓系白血病细胞	慢病毒	40	B-2
Plasma Cell Leukemia	ARH-77	人多发性骨髓瘤细胞	慢病毒	20	B-2
Burkitt's Lymphoma	Ramos (RA 1)	人B淋巴瘤细胞	慢病毒	20	B-1
Lymphoma	EL4	小鼠淋巴瘤细胞	逆转录病毒	50	B-2
	JeKo-1	人套细胞淋巴瘤细胞	慢病毒	40	B-2
	YAC-1	小鼠淋巴瘤细胞	逆转录病毒	5	B-2
T-Cell Lymphoblastic Lymphoma	SUP-T1 [VB]	人T淋巴瘤细胞	慢病毒	20	B-2
Histiocytic Lymphoma	U-937	人组织细胞淋巴瘤细胞	慢病毒	30	B-1
AELSON Murine Leukemia Virus-Induced Tumor	RAW 264.7	小鼠单核巨噬细胞白血病细胞	逆转录病毒	20	B-1
其他	SP2/0	小鼠骨髓瘤细胞	逆转录病毒	20	B-2
	MR1	中国仓鼠X小鼠B淋巴细胞杂交瘤	慢病毒	30	B-2
	35.1	小鼠B细胞x小鼠淋巴瘤杂交瘤细胞抗CD2	逆转录病毒	50	B-2
	OP9	小鼠骨髓基质细胞	慢病毒	30	B-2
	Wistar大鼠骨髓MSC细胞	Wistar大鼠骨髓MSC细胞	慢病毒	10	B-2
	Sprague Dawley(SD)大鼠骨髓MSC细胞	Sprague Dawley(SD)大鼠骨髓MSC细胞	慢病毒	20	B-2
	MM.1S	人IgA-I骨髓瘤细胞	慢病毒	20	B-2

■ 注意事项

本产品仅限于研究和实验室用途，不适用于药物、家庭或其他用途。

请避免直接与皮肤接触，操作后请及时清洗双手。