

慢病毒产品手册

Recombinant Lentivirus with SV40 T 带有 SV40 T 基因的重组慢病毒

产品货号: LVRN-10061



产品介绍

SV40 (simianvirus 40) 是一种分离自猿猴肾细胞培养物的病毒，其诱导细胞转化的特性主要与其编码的早期蛋白——T 抗原密切相关。该病毒的早期基因区域可编码两种肿瘤抗原：大 T 抗原（分子量 94 kDa）与小 T 抗原（分子量 17 kDa）。其中，大 T 抗原是启动细胞转化所必需的核心因子，其在维持转化细胞表型的过程中亦需持续表达；而小 T 抗原虽非细胞转化所必需，但能显著增强大 T 抗原的转化效应。鉴于大 T 抗原能高效诱导细胞进入永生化状态，其已被广泛应用于多种人类细胞类型的永生化研究。

OriCell®使用第三代包装系统构建的“自失活”性慢病毒，在感染目标细胞后不会再感染其他细胞，也不会利用宿主细胞复制出新的病毒颗粒。

OriCell®的慢病毒产品可在体外高效地转染干细胞、内皮细胞、肝细胞等多种细胞，在转染细胞时不添加其他辅助转染试剂已达到良好的转染率，并在细胞内持久稳定地表达。

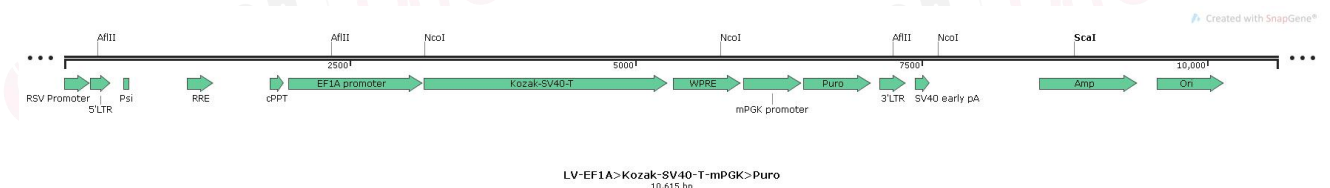
注意：本产品仅提供给进一步科研使用，不可用于临床治疗等其他用途。

使用本产品发表的文献需注明： (OriCell, Cat.No. LVRN-10061) from Cyagen.

产品信息

产品名称	带有 SV40 T 基因的重组慢病毒
简称	Recombinant Lentivirus with SV40 T
货号	LVRN-10061
规格	200 μL*5
颗粒总量	≥1×10 ⁸ TU/mL
生物安全等级	2
保存条件	-80°C

表达载体信息



质量控制

- 通过病毒滴度检测。
- 通过细菌、真菌、支原体检测。
- 通过转染能力检测检测。

详情见《产品检测报告》。

产品稳定性及保存条件

- 本品可在-80°C环境中保存 12 个月，在 4°C中保存 1 周。
- 本品不可保存于液氮。
- 避免本品反复冻融，每冻融一次可能造成病毒滴度 10%以上的损失。若单次用量较少，请在首次融解时即分装至单次用量。

处理原则

- 请在生物安全二级的环境中处理本品，操作时需做好充足的防护工作。
- 用于转染的细胞需保证无支原体感染，多个种类的支原体会严重影响慢病毒的活力，造成转染效果差。
- 经慢病毒转染后的细胞也需要在生物安全二级的环境中进行后续实验。
- 若操作过程中有病毒溶液飞溅、倾洒，请立即使用 70%酒精或 0.06%次氯酸钠溶液擦拭干净。
- 若操作中有病毒溶液接触到皮肤，请立即使用大量肥皂水、消毒洗手液和清水冲洗接触部位的皮肤；若不慎接触伤口或入眼，请用大量肥皂水或清水冲洗后及时至就近医院处理。
- 废弃的所有沾染病毒的试剂和耗材，请用 84 消毒液、煮沸、高温灭菌等方式无害化处理后丢弃。

慢病毒的使用

所需材料

- 状态良好的待转染细胞
- 适宜细胞生长的完全培养基
- 消毒用品

细胞转染操作步骤

Day 1: 准备细胞

1. 细胞消化、离心收集。
2. 根据细胞生长特性，接种至合适的培养板中（建议使用 24 孔板、12 孔板、6 孔板）。
3. 接种细胞的量以 16~24 h 后汇合度达到 30%左右为宜。

注意：1) 为避免后续操作过程中可能出现的纰漏、确保实验数据的可靠性，请准备足够的细胞以设置平行实验组。

2) 一批次实验中，请至少多接种一个孔的细胞用于细胞计数。

Day 2: 转染

1. 从-80℃冰箱中取出慢病毒，放入 4℃冰箱或冰盒中解冻，备用。
2. 预热细胞培养基。
3. 给所有需要转染病毒的细胞更换新鲜的培养基（24 孔板每孔 300~500 μL，12 孔板每孔 400~800μL，6 孔板每孔 1~1.2 mL）。
4. 根据细胞适宜的 MOI 及病毒滴度，加入相应体积的病毒悬液。计算公式：

$$\text{病毒体积} = \frac{\text{MOI} \times \text{细胞数量}}{\text{病毒滴度}}$$

5. 轻柔并充分混匀病毒悬液和培养基，将细胞放回培养箱。
6. 6~8 h 后观察细胞状态，若发现形态变化或其他明显异常，则需更换新鲜无病毒的培养基；若无异常，可继续培养过夜后更换新鲜培养基，以保证足够的转染时间。

Day 3~5: 观察、药筛

1. 经过慢病毒转染的细胞需观察细胞状态，确保细胞未出现明显毒性反应（如大量细胞死亡等）。
2. 继续培养细胞 24~48 h，荧光素酶基因开始表达；细胞状态较好的情况下，可在转染 48 h 后即可开始药筛（本产品携带嘌呤霉素 puromycin 抗性基因）；如果细胞状态较差，可在 72 h 后进行药筛。
3. 每 2~3 天更换一次含有嘌呤霉素的完全培养基，持续筛选 1~2 周。
4. 使用荧光素酶检测试剂盒检测细胞中荧光素酶活性，或使用 QPCR 检测荧光素酶基因的表达。

注意：1) 请在转染 48-72 h 后开始药筛；

2) 各种细胞适合的药筛浓度可能有较大差异，请做好充分测试；

3) 请做好野生型药筛对照，原则上需要加药培养至野生型细胞全部死亡，但部分细胞可能较脆弱，细胞状态明显变差时，请及时停止药筛；

4) 一般嘌呤霉素药效峰值在 48~72 h。

赛业（苏州）生物科技有限公司保留OriCell®细胞培养产品技术文件的所有权利。

没有赛业（苏州）生物科技有限公司的书面许可，本文件的任何部分，

不得改编或转载用作其他商业用途。