Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

V 1.0.0

GM easy™ Lentiviral Packaging Kit

慢病毒包装试剂盒

Cat.No. GMeasy-10（10 个 10 cm 皿）

Cat.No. GMeasy-20（20 个 10 cm 皿）

Cat.No. GMeasy-40（40 个 10 cm 皿）

产品信息：

产品编号	产品名称	规格	保存
GMLCP-10	GM easy™ Lentiviral Mix	100 μL (1 μg/μL)	-20℃
GMLCP-20		200 μL (1 μg/μL)	
GMLCP-40		400 μL (1 μg/μL)	
HGTG-06	HG Transgene™ Reagent	0.6 mL	4℃
HGTG-12		1.2 mL	
GMLNC-01	eGFP 对照质粒(Amp$^+$)	1.5 μg	-20℃

产品描述：

吉满生物的 GM easy™ 慢病毒包装试剂盒（GM easy™ Lentiviral Packaging Kit ，Cat.No. GMeasy-10,20,40）包括优化的慢病毒包装辅助质粒混合物（GM easy™ Lentiviral Mix）、表达 eGFP 蛋白的对照质粒和高效转染试剂（HG Transgene™ Reagent）。吉满的慢病毒包装试剂盒，可以兼容第二代和第三代的慢病毒包装质粒，其优势在于慢病毒包装时间周期短（一周之内即可拿到纯化好的高滴度慢病毒），可应用于针对不同基因和药物靶标的临床前细胞学实验和整体动物实验，非常适合于病毒包装初试者。

慢病毒包装所需其他材料（选用）：

1. DMEM：GIBCO
2. FBS：GIBCO
3. Penicillin-Streptomycin：GIBCO
4. HEK-293T/293FT：慢病毒包装及滴度检测所用工具细胞。
5. Antibiotics：用于稳定转染细胞株筛选，如 Puromycin，Neomycin (G-418)等。

病毒包装前的准备

1. 慢病毒表达载体：包含病毒包装，侵染和将病毒重组基因整合到基因组 DNA 中以便表达目的基因或者 shRNA 的基本元件。吉满生物提供的慢病毒载体 pGMLV 系列经过精心优化，能够包装出超高滴度的慢病毒。吉满生物提供慢病毒载体构建服务，详情请见公司网站 www.genomeditech.com。

2. DNA 溶液的制备：以 QIAGEN 公司的质粒抽提试剂盒提取慢病毒包装系统中各种质粒 DNA，质粒 DNA 溶于除菌的 TE 或 ddH_2O 中，以紫外光吸收法测定其浓度及纯度，保证所提质粒 DNA 的 A260/A280 在 1.8～2.0 之间。
3. 细胞状态：良好的细胞状态对病毒的包装至关重要，避免细胞培养基有细菌、真菌或支原体的污染，尽量使用传代次数较少的细胞，如果细胞是刚复苏的话，最好传两代之后再包装。

慢病毒包装：

吉满生物慢病毒载体表达系统由 pGMLV 慢病毒载体和 GM easy™ Lentiviral Mix 质粒组成。pGMLV 慢载体中含有 HIV 的基本元件 5'LTR 和 3'LTR 以及其他辅助元件，例如 WPRE 和 cPPT/CTS 等。吉满可以根据不同的实验目的针对 pGMLV 载体改造以进行启动子活性研究、基因表达研究、RNA 干扰等研究。GM easy™ Lentiviral Mix 能够表达病毒包装需要的各种必需成分如：gag 基因，编码病毒主要的结构蛋白；pol 基因，编码病毒特异性的酶；rev 基因，编码调节 gag 和 pol 基因表达的调节因子；还含有单纯疱疹病毒来源的 VSV-G 基因，提供病毒包装所需要的包膜蛋白，可以兼容第二代和第三代的慢病毒包装质粒。

实验流程：

制备编码慢病毒颗粒的重组病毒质粒及其辅助包装原件载体质粒，重组质粒和辅助质粒分别进行高纯度无内毒素抽提，使用 HG Transgene™ Reagent 进行共转染 HEK-293T 细胞，转染 18 h 后 更换为完全培养基，继续培养 48 h 后，收集富含慢病毒颗粒的细胞上清液，对其浓缩后得到高滴度的慢病毒浓缩液，在 HEK-293T 细胞中测定病毒滴度。在一定滴度范围内的慢病毒颗粒可以满足大部分体内体外实验需求。

1. HEK-293T 细胞分盘：

转染前一天，将已经长好的细胞以合适比例传代到 10 cm 培养皿中，当细胞长到~80%时准备转染。

2. 转染前换液：

转染前 1~2 h 将需要转染的细胞换新鲜的培养基，12 mL/10 cm 皿。换液时应小心滴加尽量避免冲起细胞。

3. 转染：

取无菌的 1.5 mL EP 管或 15 mL 离心管，按下列组分配制反应体系：

无血清 DMEM	1 mL
DNA	10 μg
GM easy™ Lentiviral Mix	10 μL（10 μg）
HG Transgene™ Reagent	60 μL

混匀后，室温放置 18 min~20 min 后，均匀滴加到提前换过液的培养皿中，后置于 CO2 培养箱中培养。

4. 换液：

转染 18~20 h 后，小心吸掉细胞培养液弃于盛有消毒液的废液杯中（注意：此时培养基中已含有少量的病毒，必须经处理后才能丢弃，所用的移液枪头等必须经消毒液浸泡处理后才能丢弃），然后加 15 mL 新鲜的培养基（也可根据实验要求换为无血清的 DMEM）继续培养。

5. 病毒收集：

换液 48 h 后，吸取细胞上清液于 50 mL 离心管，4℃，500 g 离心 5 min，上清液用 0.45 μm 滤器过滤后转移到新的离心管中。此时上清液中的病毒颗粒可以直接去检测滴度或者感染目的细胞，如果对病毒的滴度及纯度有较高要求，可对上清液进行浓缩与纯化。

6. 病毒分装与保存：

将病毒以 40~50 μL 分装，后保存于-80℃

其他：

详细慢病毒包装流程、注意事项及感染信息可以参见吉满网站：www.genomeditech.com 吉满对 GM easy™ Lentiviral Packaging Kit 慢病毒包装试剂盒用户提供全方位咨询服务。

Genomeditech