

*Make a leap-forward in Biosciences*

ViralStars<sup>TM</sup> LC  
Lentivirus Concentration Solution  
(5x)

Catalog Number: LC110R

LeapWal<sup>TM</sup> 立谱沃生物  
BIOTECH



Hunan LeapWal Biotech Co., Ltd.

LeapWal<sup>TM</sup> Biotech 保留此产品技术文件的所有权利。未经 LeapWal<sup>TM</sup> Biotech 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。

Product Manual

Version 1.0

FOR RESEARCH USE ONLY  
Not for use in diagnostic procedures

# 目录 Contents



|           |    |
|-----------|----|
| 01/产品概述   | 02 |
| 02/产品组分   | 02 |
| 03/保存条件   | 03 |
| 04/产品特点   | 03 |
| 05/实验流程概要 | 03 |
| 06/实验步骤   | 04 |
| 07/适用范围   | 04 |
| 08/注意事项   | 05 |
| 09/实验案例分析 | 05 |
| 10/其他相关产品 | 06 |

## 01/产品概述

基于人类免疫缺陷病毒-1 (HIV-1) 的慢病毒载体是一种用于基因转移研究的载体。慢病毒载体可以将外源基因或外源的 shRNA 有效地整合到宿主染色体上,从而达到持久性表达目的序列的效果。在感染能力方面,慢病毒载体可有效地感染神经元细胞、肝细胞、心肌细胞、肿瘤细胞、内皮细胞、干细胞等多种类型的细胞。对于一些较难转染的细胞,如原代细胞、干细胞、不分化的细胞等,使用慢病毒载体能大大提高目的基因或目的 shRNA 的转导效率,且目的基因或目的 shRNA 整合到宿主细胞基因组的几率大大增加,能够比较方便快捷地实现目的基因或目的 shRNA 的长期、稳定表达。在体外实验及体内实验的研究中,慢病毒已经成为表达外源基因或外源 shRNA 的常用载体形式之一,并且正在获得越来越广泛的应用。

ViralStars<sup>TM</sup> LC Lentivirus Concentration Solution 慢病毒浓缩试剂是针对慢病毒富集而优化的聚合物材料,它提供了一种简单、快速、高效的慢病毒颗粒浓缩方法。只需将慢病毒上清液与慢病毒浓缩试剂按比例混合,短时间孵育,采用标准离心机进行离心即可得到慢病毒颗粒沉淀。超滤、超速离心法等病毒浓缩法,操作时间长,步骤繁琐,且通常会有细胞碎片和血清蛋白等的污染,病毒纯度低。使用本产品进行病毒浓缩后,病毒滴度可提高 10-100 倍,病毒回收率最高可达约 90%,病毒损失少,并且病毒在浓缩过程中能保持病毒生物活性。整个实验过程可在 4 小时内快速完成,无需超速离心即可获得出色的回收效率。

## 02/产品组分

| 组分                                                               | LC110R |
|------------------------------------------------------------------|--------|
| ViralStars <sup>TM</sup> LC<br>Lentivirus Concentration Solution | 100 mL |

### 03/保存条件

冰袋 (wetice) 运输。4℃ 保存，有效期 12 个月。

### 04/产品特点

- ◇ 简单快速——操作简单，无需超速离心，确保活性，实验耗时不超过 4 小时
- ◇ 浓缩效果优——病毒滴度可浓缩 10-100 倍以上 (Transduction Units/mL)
- ◇ 回收效率高——慢病毒回收效率高达 90% 以上
- ◇ 应用范围广——适用于所有类型的慢病毒颗粒

### 05/实验流程概要

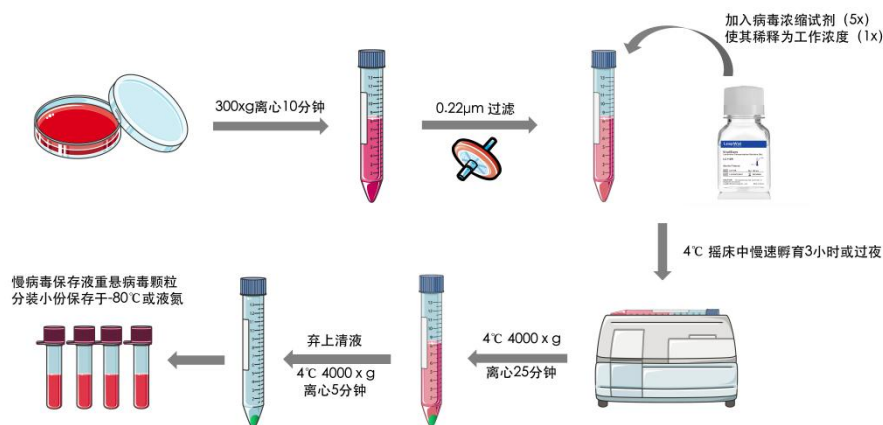


图1: ViralStars™ LC Lentivirus Concentration Solution  
慢病毒浓缩实验流程图

### 06/实验步骤

1. 将含有慢病毒颗粒的培养基转移至无菌容器中，300xg 离心 10 分钟以除去细胞碎片。
  - 为保证病毒活性，浓缩前的病毒上清液应尽量选择新鲜收集的病毒原液。
2. 使用 0.22μm 过滤器过滤上清液至无菌容器中。
  - 如果使用滤膜过滤，推荐使用低蛋白结合力的纤维素醋酸酯或聚醚砜 (PES) 膜，不推荐使用硝酸纤维素膜 (NC)。
3. 向每 4 体积含慢病毒的上清液中加入 1 体积慢病毒浓缩试剂 (5x)，使慢病毒浓缩试剂 (5x) 稀释为工作浓度 (1x)。
4. 将上述混合物于 4℃ 摇床中慢速孵育 3 小时或过夜。
  - 慢病毒颗粒在 4℃ 可稳定长达 4 天。
5. 将混合物 4℃ 4000 x g 离心 25 分钟。离心后，慢病毒颗粒可能在容器底部显示为米色或白色沉淀。
6. 小心弃去上清液，4℃ 4000 x g 离心 5 分钟，再次弃尽残余液体，应尽量避免吸走沉淀物，该沉淀物即为慢病毒颗粒。
7. 用初始体积 (原上清液体积) 1/10-1/100 预冷的慢病毒保存液重悬病毒颗粒，使用移液器小心吹打，重悬慢病毒颗粒。
  - 重悬病毒沉淀时，吹打操作要轻柔，可选择慢病毒保存液 (LS110R)、完全培养基或 FBS 重悬慢病毒。
8. 小体积分装慢病毒，储存于 -80℃ 冰箱或液氮中，留取少量病毒测定滴度。
  - 应尽量避免慢病毒反复冻融，否则会降低病毒滴度。

### 07/适用范围

适用于任何慢病毒颗粒的浓缩方法。

## 08/注意事项

1. 为了您的健康安全，请规范操作，穿戴实验服与手套开展实验；
2. 所有慢病毒操作均需在 BSL2 级生物安全柜中进行；
3. 本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及治疗。

## 09/实验案例分析

1. 使用 10cm 细胞培养皿培养 ViralStars<sup>TM</sup> Lentivirus Packaging Cell Line (CL110001)，待细胞密度为 60-70%左右开始包装慢病毒；
2. 使用 ViralStars<sup>TM</sup> LP Lentivirus Packaging Kit (LP110-10) 进行慢病毒包装（阳性对照质粒含 GFP 绿色荧光蛋白基因），具体包装步骤按照说明书进行；
3. 准备目的细胞：将需感染的目的细胞 293T 以  $(1-3) \times 10^4$  的密度接种于 96 孔板内，次日即可进行慢病毒感染；
4. 待病毒包装 48h 后，收集慢病毒上清液约 9mL，300xg 离心 10 分钟以除去细胞碎片，使用 0.22 $\mu$ m 过滤器过滤上清液至无菌容器中。
5. 取 1mL 病毒上清液作为浓缩前对照 1\*，剩余 8mL 病毒上清液中加入 2mL 本产品进行慢病毒浓缩，具体慢病毒浓缩步骤按照说明书进行，保留 1mL 浓缩后应弃去的上清液作为对照 2\*，使用 800 $\mu$ L ViralStars<sup>TM</sup> LS Lentivirus Storage Solution (LS110R) 轻轻重悬慢病毒颗粒，即可得到浓缩 10 倍的慢病毒；
6. 慢病毒感染目的细胞：将 96 孔板细胞弃去上清，每孔加入新鲜培养基 100 $\mu$ L，Polybrene (LE110-01) 0.2 $\mu$ L，浓缩后慢病毒 100 $\mu$ L 或对照 1\*（浓缩前慢病毒原液）100 $\mu$ L 或对照 2\*（浓缩后应弃去的慢病毒上清液）100 $\mu$ L；
7. 继续培养细胞 48h 后，使用荧光显微镜观察绿色荧光强度，实验结果如图 2 所示。

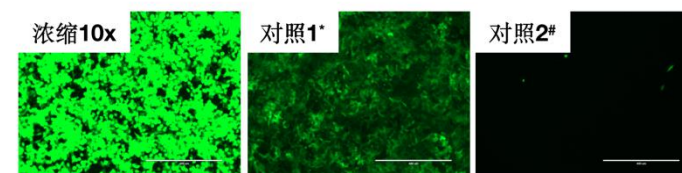


图 2: 慢病毒感染目的细胞 293T 观察 GFP 表达情况。（左）浓缩 10x 慢病毒，（中）对照 1\*（浓缩前慢病毒原液），（右）对照 2\*（浓缩后应弃去的慢病毒上清液）。

## 10/其他相关产品

| 产品名称                                                       | 货号       | 规格                      |
|------------------------------------------------------------|----------|-------------------------|
| ViralStars <sup>TM</sup><br>Lentivirus Packaging Cell Line | CL110001 | 3-5 $\times 10^6$ 个细胞/管 |
| ViralStars <sup>TM</sup> LP<br>Lentivirus Packaging Kit    | LP110-10 | 10 T                    |
|                                                            | LP110-20 | 20 T                    |
|                                                            | LP110-40 | 40 T                    |
| ViralStars <sup>TM</sup> LS<br>Lentivirus Storage Solution | LS110R   | 100 mL                  |
| Polybrene (10 mg/mL)                                       | LE110-01 | 1 mL                    |
|                                                            | LE110-05 | 1 mL x 5 支              |
| Puromycin (10 mg/mL)                                       | PS610-01 | 1 mL                    |
|                                                            | PS610-05 | 1 mL x 5 支              |