

## 慢病毒包装SOP

### 1. 主要仪器

表1 实验所用主要仪器

所用仪器	仪器型号	公司
CO <sub>2</sub> 培养箱	HF90	Heal force
倒置相差显微镜	IX71	Olympus
生物安全柜	HF-1200LC	Heal force
电热恒温水浴锅	HH-US-A	美标

### 2. 主要试剂

表2 主要试剂及其生产公司

试剂名称	货号	生产公司
DMEM	SH30022.01	HyClone
胎牛血清	SH30084.03	Hyclone
PBS	C10010500BT	Life

### 3. 实验步骤

#### 3.1 质粒浓度测定

对用去内毒素试剂盒提过的质粒进行浓度测定，确定慢病毒包装中质粒的量。

#### 3.2 293T细胞培养

复苏293T细胞，用含10%FBS，100 U/ml青霉素和100 μg/ml链霉素的DMEM培养基于37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养，每隔1天更换1次培养基。待细胞状态好时，以1.5\*10<sup>6</sup>/10cm培养皿接种细胞。次日转染前2h更换新鲜培养基。

#### 3.3 磷酸钙共转染法转染

慢病毒包装的三种质粒比例为pCDH-GFP载体：delta8.9：VSVG=15:12:8，转染体系如下表1：

表1 慢病毒包装质粒体系

Reagent	Volume
pCDH-GFP	15μg
delta8.9	12μg
VSVG	8μg
灭菌ddH <sub>2</sub> O	up to 450μL

按体系所示在1.5mL离心管中加入质粒，继续在该EP管中加入2.5M CaCl<sub>2</sub> 50μl，涡旋混匀。将500μl CaCl<sub>2</sub>-DNA 溶液逐滴加入500μl 2×HBS，边加边用移液枪吸

打混匀，将1mL混合液室温放置30min。将磷酸钙-DNA悬液逐滴加入铺有293T的10cm的培养皿中，边加边轻轻晃动培养皿。转染8h后更换新鲜的DMEM完全培养液。

### 3.4收集并观察病毒

分别于转染后48h、72h收集含有病毒的上清液，4000rpm离心10min保留上清。将含有病毒的上清液分装成小份保存于-80℃备用。同时，留取小部分约200ul观察细胞形态及包装是否成功。

The end



• **一站式蛋白抗体发现服务**

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

—— 武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台 ——