



AAVPrime™ 腺相关病毒的使用

实验方法: AAV 转导目的细胞

I. 产品概述

GeneCopoeia 的 AAVPrime™腺相关病毒 (Adeno-associated virus, AAV) 可高效介导外源基因感染多种不同类型的分裂或非分裂细胞, 对人体无致病性, 是理想的基因转导研究工具。AAVPrime™包装系统是由非致病性的野生型腺相关病毒改造优化而成, 不需应用腺病毒即可完成包装过程, 进一步减低潜在致病性, 使用过程更安全。

II. 实验方法

本实验以 AAV2 血清型感染 24 孔 GCI-AAV-HT1080 细胞为例。其他的细胞和血清型也同样适用, 但需要调整病毒滴度以及选取能够有效感染的细胞类型来进行实验。

第一天: GCI-AAV-HT1080细胞铺板

1. 使用 24 孔培养板, 铺板培养GCI-AAV-HT1080 细胞, 每孔各加入细胞约 1.3×10^5 、培养基 1ml (添加10%热灭活胎牛血清、青霉素-链霉素双抗), 在 5% CO₂、37℃条件下培养过夜 (约24小时)。

第二天: 感染HT1080 cells

2. 每孔细胞中加入0.8 μM的喜树碱, 轻轻摇匀, 继续放回37℃培养箱培养4 h。该步骤是可选的, 但是可以提高多种细胞的转导效率。

3. 用感染复数(MOI)法计算病毒的用量。MOI = 所需的AAV病毒颗粒 / 感染的细胞数。

若MOI = 1, 所需病毒颗粒的体积(μl) = ((每孔的细胞数)/(病毒滴度(GC)/ml)) x 1,000。

要使目的细胞达到100%的感染而又不会对其产生严重的副作用, MOI计算病毒的用量很重要。大多数细胞在AAV的感染上适用于1,000~10,000个MOI, 个别的细胞可能需要500,000个MOI。

进行MOI测定: 如果首次对某种细胞进行感染, 我们建议用相同血清型的eGFP报告AAV病毒进行MOI测定

AAVPrime™ Adeno-associated virus (AAV) Particles User Manual

(MOI=100, 1,000, 10,000)，对于难转导的细胞可能需要更高的MOI。

例如：铺板 24 h 后 GCI-AAV-HT1080 细胞达到约 3×10^5 每孔，用滴度约 1×10^{11} GC/ml 的 AAV 进行转导。要获得 MOI = 1,000，则需要感染 3 μ l 的 AAV 病毒。要获得 MOI = 10,000，需要 30 μ l 的 AAV 病毒。

4. 室温融化 AAV 病毒，病毒用 2% 热灭活胎牛血清的细胞培养基稀释到所需的 MOI，总体积为 200 μ l。

5. 去除细胞中含喜树碱的培养基，并加入步骤 4 中的稀释好的病毒混合物。

6. 在 5% CO₂、37°C 条件下培养 2 h，期间每 30 min 轻轻摇匀一次。

7. 继续加入每孔 200 μ l 预热的培养基（含 18% 热灭活胎牛血清），继续培养 40-48 h。

第四天：替换培养基

8. 去除细胞中含有 AAV 的培养基，每孔补加 1 ml 预热的细胞培养基（含 10% 热灭活胎牛血清）。

第五~十四天：

9. 收集细胞进行下一步检测。

III 使用许可协议及质量保证

有限使用许可协议

以下条款适用于 GeneCopoeia 所有的产品。如果不接受以下条款，所有的产品必须 5 个工作日内返还回 GeneCopoeia。GeneCopoeia 的产品仅限购买方内部研究使用，不可用于包括人类或体外诊断和治疗在内的其他用途。GeneCopoeia 的产品不得修改和转售、转赠给任何第三方，未经 GeneCopoeia 的书面批准，不得将产品用于向其他第三方提供服务或用于制造商品化产品。此产品须按 NIH 指南用于 DNA 重组和基因研究。对此产品任何使用都构成对以上条款的承诺和接受。

有限质量保证

GeneCopoeia 保证您收到的产品符合产品目录上的规格。如果 GeneCopoeia 的产品未能满足这些规格，GeneCopoeia 将替换该产品。如果不能提供替换产品，GeneCopoeia 将退款给购买方。这个有限质量保证不得延伸至产品的原始购买者以外的人。如果产品与订购信息不符，所有的产品必须在 30 天内返还回 GeneCopoeia。GeneCopoeia 的责任仅限于替换产品，且退款只限于实际的购买价格。GeneCopoeia 不对任何由于使用或不正确使用本公司产品造成的直接、间接的、衍生的或偶然的损害所产生的后果负责。GeneCopoeia 提供此唯一保证。GeneCopoeia 对于产品的适销性以及任何特定使用用途不再提供任何其他保证。

GeneCopoeia 致力于为我们的客户提供高质量的产品。如果你对我们的产品有任何问题和担忧，请和我们联系，

客服电话：020-32068595。

© 2017 GeneCopoeia, Inc.