

慢病毒包装试剂盒 使用说明书

本试剂盒专用于科研，而非用于诊断

目录 | CONTENTS

1. 产品说明	1
2. 产品组成及介绍.....	1
3. 需要但未提供	2
4. 一般考虑因素和生物安全指南	2
5. 慢病毒包装准备.....	3
6. 慢病毒制备	6
7. 慢病毒纯化（离心重悬工艺）	8
8. 故障排除	8
9. 关联产品	8
10. 联系方式	9
11. 买方须知	9



1. 产品说明

慢病毒包装是一种常用的实验技术，用于制备含有特定基因的慢病毒载体，这些载体可以用于基因功能研究、细胞与基因治疗等。慢病毒包装涉及多个步骤，需要精确操作，对实验技术要求较高。目前常用包装细胞为贴壁的 293T 细胞，通过四质粒系统共转染后开始慢病毒的制备。贴壁包装系统收获病毒量较少，难以放大进行大规模的病毒制备，为解决慢病毒包装滴度低、方法困难等问题，Hillgene 根据多年的慢病毒工艺经验，开发出了一款通用型的慢病毒包装试剂盒产品。该产品基于四质粒系统打造（包装质粒：gag/pol，包装质粒：rev，包膜质粒：VSV-G，穿梭质粒），具有更高的安全性。产品使用悬浮 293T 细胞进行慢病毒的包装，依靠 Hillgene 特有的无血清悬浮培养技术，结合 HiLenti[®] 转染试剂可在无血清条件下产生优良的功能性慢病毒。

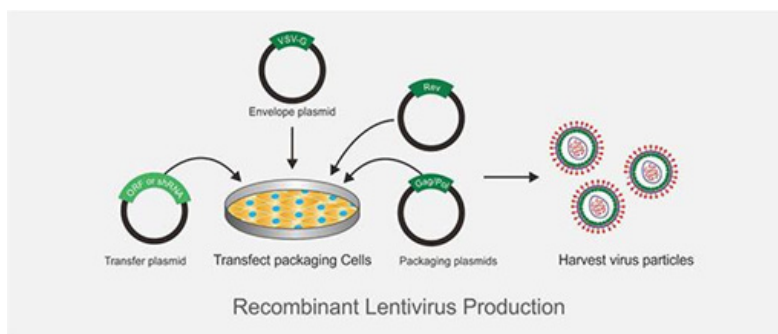


图 1：慢病毒包装原理示意图

2. 产品组成及介绍

类别	产品名称	货号	规格	数量	储存条件
悬浮体系试剂	HiLenti [®] 293T 悬浮细胞	HG-HL-293T	1 支	1 支	-80°C
	HiLenti [®] 293T 悬浮培养基	HG-MD001-1000	1L/ 瓶	2 瓶	2-8°C
	HiLenti [®] 转染增强剂	HG-MD005-125	125 ml/ 瓶	1 瓶	2-8°C
通用慢病毒包装试剂	HiLenti [®] 转染试剂	HG-HL-TD001	1 ml/ 支	2 支	-20°C
	HiPlas [™] -LVV-T-OptiMix	HG-pHi005-R	1mg: 1ml/ 支	1 支	-80°C
	HiPlas [™] -lenti-GFP	HG-pHi006	1mg: 1ml/ 支	1 支	-80°C
	HiLenti [®] 慢病毒保存液	HG-LPC001	125 ml/ 瓶	1 瓶	2-8°C

2.1. HiLenti[®]293T 悬浮细胞：

HiLenti[®]293T 悬浮细胞来源于 ATCC 的 293T 细胞系，经过驯化后适合在 HiLenti[®]293T 悬浮培养基中悬浮培养。细胞系特征：
(1) 表达 E1A 腺病毒基因表达；(2) 表达 SV40 大 T 抗原；(3) 细胞倍增时间约为 24 小时；(4) 在细胞传代 5-15 代之间具有较高的慢病毒生产能力。

2.2. HiLenti[®]293T 悬浮培养基

HiLenti[®]293T 悬浮培养基是为 HiLenti[®]293T 悬浮细胞研制的不含动物来源、血清和蛋白质的化学成分限定培养基。

2.3. HiLenti[®]293T 转染增强剂

HiLenti[®]293T 转染增强能在 HiLenti[®]293T 悬浮细胞慢病毒包装后慢病毒的组装和分泌提供帮助，提高慢病毒的产量。

2.4. HiLenti[®] 转染试剂

HiLenti[®] 转染试剂是一种纯化学合成，不含动物源成分的转导试剂，适合多质粒共转染并通过此方式进行病毒载体的生产。

2.5. HiPlas[™] -LVV-T-OptiMix

HiPlas[™] -LVV-T-OptiMix 是 Hillgene 通过开发后按一定比例将 HiPlas[™]-lenti-VSVG、HiPlas[™]-lenti-Gag/pol、HiPlas[™]-lenti-Rev 三种质粒混合后的质粒，可直接使用。

2.6. HiPlas[™] -lenti-GFP

HiPlas[™] -lenti-GFP 在 Hillgene 载体骨架上表达 GFP 荧光蛋白的质粒，可以通过克隆的方式将需要表达的基因克隆至谱新的 HiPlas[™] -lenti 载体上并进行对应病毒的包装，也可以作为病毒包装的阳性对照使用。

3. 需要但未提供

慢病毒包装操作复杂，时间长，需要涉及多种的操作设备及使用物料，以下列表中为病毒包装实验必须的设备及物料。

3.1. 仪器列表

- ◆ 振荡培养箱
- ◆ 生物安全柜
- ◆ 台式冷冻离心机
- ◆ 荧光细胞分析仪
- ◆ 电热恒温水浴锅

3.2. 物料列表

- ◆ 谷氨酰胺
- ◆ 125mL 三角摇瓶
- ◆ 500mL 三角摇瓶
- ◆ 1.5L 三角摇瓶
- ◆ 5L 细胞摇瓶
- ◆ 10 mL 移液管
- ◆ 50mL 移液管
- ◆ 1000uL 滤芯枪头
- ◆ 500mL 大容量锥形瓶离心管
- ◆ 50mL 离心管
- ◆ 二甲基亚砜
- ◆ 250mL 三角摇瓶
- ◆ 1L 三角摇瓶
- ◆ 3L 三角摇瓶
- ◆ 5mL 移液管
- ◆ 25mL 移液管
- ◆ 200uL 滤芯枪头
- ◆ 250mL 大容量锥形瓶离心管
- ◆ 2000mL 大容量锥形瓶离心管
- ◆ 1.5mL 冻存管

4. 一般考虑因素和生物安全指南

为了您和您周围其他人的安全，必须充分了解使用慢病毒的潜在危害以及在实验室中生产和使用它们的必要预防措施。美国国家卫生研究院和疾病控制中心已将慢病毒定为生物安全 2 级危险生物产品。

请按照 2 级生物安全防护措施（Biosafety Level 2, BSL-2）进行慢病毒的生产和使用。以下是 BSL-2 实验室通常采取的一些关键防护措施：

- ◆ 培训：所有实验室工作人员必须接受有关生物安全知识的培训，了解所处理的病原体特性和相关的风险。
- ◆ 个人防护装备（PPE）：

- ◆ 实验室工作人员应穿戴适当的个人防护装备，如实验服、手套、口罩、护目镜或防护面罩。
- ◆ 生物安全柜：使用生物安全柜进行涉及感染性材料的操作，以防止气溶胶的产生和扩散。
- ◆ 实验室设计：实验室应有明确的入口和出口，限制非授权人员的进入，并配备洗手设施。
- ◆ 废物处理：所有感染性废物都应放置在专用的、带有生物危害标识的容器中，并按照规定进行消毒和处理。
- ◆ 设备和表面消毒：定期对实验室设备和表面进行消毒，以减少交叉污染的风险。
- ◆ 锐器处理：使用专用的锐器盒收集针头、刀片和其他尖锐物品，避免意外伤害。
- ◆ 操作程序：遵守严格的操作程序，如使用吸管时避免接触嘴吸，避免在工作区域饮食或使用个人物品。
- ◆ 应急预案：制定并熟悉应急预案，以应对可能发生的意外事故，如化学品泄漏、火灾或个人暴露。
- ◆ 健康监测：实验室工作人员应进行定期的健康检查，特别是对于可能接触到的病原体。
- ◆ 废物去污：所有可能被污染的废物在离开实验室前都应进行适当的去污处理。
- ◆ 记录和报告：保持详细的实验记录，包括所有使用的病原体、实验过程和任何事故或暴露事件。
- ◆ 安全标识：在实验室入口和出口处设置明显的生物危害标识，提醒人员注意安全。

5. 慢病毒包装准备

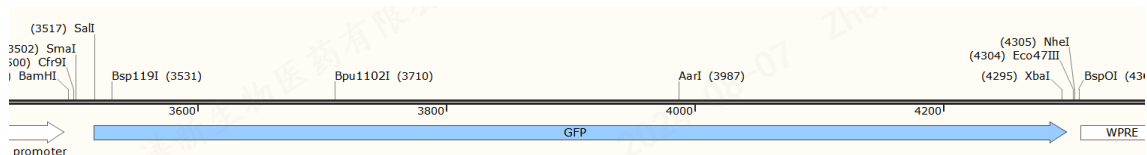
5.1. 病毒包装流程



图 2：病毒包装流程图

5.2. 穿梭质粒制备

5.2.1. 慢病毒包装试剂盒中提供了 HiPlas™ -lenti-GFP 质粒产品，该产品基于公开信息进行载体骨架设计，经过 Hillgene 长期测试，骨架性能表现优异，用户可以通过克隆的方式将需要表达的序列克隆至载体上，多克隆酶切位点（BamHI+Sall）如下：



5.2.2. 用户可以自行进行穿梭质粒的设计与构建，慢病毒包装试剂盒中提供了 HiPlas™ -LVV-T-OptiMix 质粒产品，可以配合穿梭质粒一起进行质粒转染操作。

5.3. 细胞准备

慢病毒包装试剂盒中提供了 HiLenti[®] 293T 悬浮细胞产品，在病毒包装中表现优异。用户可以基于试剂盒中提供的 HiLenti[®] 293T 悬浮细胞产品，按照说明书中提供的方法，在实验室中即可进行细胞建库，用于以后的使用。

5.3.1. 细胞建库工艺流程



5.3.2. 细胞株和细胞库定义

以接收到的 HiLenti[®]293T 悬浮细胞定义代次为 293T 的 P0 代，按照固定的传代比率进行传代，每传代 1 次视为 1 代。

细胞库管理遵照三级管理，即原始细胞库 PCB，主细胞库 MCB 和工作细胞库 WCB。原始细胞库被用来建立主细胞库，主细胞库被用来建立工作细胞库。

5.3.3. 溶液配制

工艺步骤	溶液名称	试剂名称	浓度
细胞复苏和扩增	复苏传代培养基	HiLenti [®] 293T 悬浮培养基	/
		200 mM 谷氨酰胺	6 mM/L
细胞冻存	2× 细胞冻存液	复苏传代培养基	840 mL/L
		二甲基亚砷 DMSO	160 mL/L

5.3.3.1. 1L 复苏传代培养基配制方法

在生物安全柜里无菌吸取 30 mL 谷氨酰胺溶液（200 mmol/L）加入至 970 mL HiLenti[®]293T 悬浮培养基中，混匀，现配现用。

5.3.3.2. 1L 细胞冻存液配制方法

在生物安全柜里无菌取 160 mL 二甲基亚砷，加入至 840 mL 无菌复苏传代培养基中，混匀，现配现用。

5.3.4. HiLenti[®]293T 悬浮细胞复苏

5.3.4.1. 设置水浴锅温度为 37.0°C，恒温备用；

5.3.4.2. 37.0°C 恒温水浴锅预热种子培养基 ≥ 20 分钟；

5.3.4.3. 设置摇床参数（振幅 50 mm）：培养温度 37.0°C、CO₂ 浓度 6.0%、130rpm；

5.3.4.4. 在生物安全柜中吸取 9 mL 预热的复苏传代培养基至 15 mL 离心管中；

5.3.4.5. 将装有细胞的冻存管立即置于 37.0°C 水浴中快速融化，勿使水浴锅水面浸过冻存管管口，2 分钟内迅速解冻；

5.3.4.6. 在生物安全柜中，打开冻存管盖，用 5 mL 无菌移液管将冻存管内全部细胞悬液移至已装有预热的复苏传代培养基的 15 mL 离心管中，拧紧盖子后传出生物安全柜，160 g 离心 5 分钟；

5.3.4.7. 在生物安全柜中，打开离心管盖，弃离心管内上清至 50 mL 离心管中，用 5 mL 预热的种子培养基重悬细胞沉淀为悬液；

5.3.4.8. 将细胞悬液移至 125 mL 一次性无菌锥形瓶中，补加 25 mL 预热的种子培养基。混匀后，吸取 0.5 mL 细胞悬液计数，细胞活率 ≥ 80%。

5.3.4.9. 在培养摇瓶外壁标记后，放入培养温度 37.0°C、CO₂ 浓度 6.0%、160 rpm 的二氧化碳摇床中培养，记录开始培养时间，培养时间 3 天；

5.3.5. 细胞扩增 I、II、III、IV

5.3.5.1. 设置水浴锅温度为 37.0°C，恒温备用；

5.3.5.2. 37.0°C 恒温水浴锅预热种子培养基 ≥ 20 分钟；

5.3.5.3. 设置摇床参数（振幅 50 mm）：培养温度 37.0°C、CO₂ 浓度 6.0%、160 rpm；

5.3.5.4. 将种子培养基和培养摇瓶外面用 75% 酒精消毒后置于生物安全柜中，在生物安全柜中对种子培养基和培养摇瓶外面用 75% 酒精擦拭；

5.3.5.5. 轻轻摇晃摇瓶，混匀细胞后，无菌吸取 0.5 mL 细胞液，进行细胞计数，检测细胞密度和活率。种子细胞摇瓶扩增 I、II、III、IV 均需满足细胞活率 ≥ 90%，细胞密度达到 $(1.5\sim 7.0) \times 10^6$ cells/mL；

5.3.5.6. 计划接种密度为 0.5×10^6 cells/mL，操作范围为 $(0.4\sim 0.6) \times 10^6$ cells/mL；

5.3.5.7. 根据细胞检测结果和计划传代体积（细胞扩增 I：60 ± 10 mL；细胞扩增 II：120 ± 10 mL；细胞扩增 III：300 ± 50 mL；细胞扩增 IV：600 ± 50 mL），根据公式，计算需要的细胞悬液体积和补加的新鲜种子培养基的体积；

5.3.6. 体积计算：

5.3.6.1. 需要细胞悬液体积 (mL) = 计划传代体积 (mL) × 计划接种密度 / 活细胞密度

5.3.6.2. 补加种子培养基体积 (mL) = 计划传代体积 (mL) - 需要细胞悬液体积 (mL)

5.3.6.3. 按照计算结果，在生物安全柜中，将需要的细胞液及需补加的新鲜种子培养基无菌移入一次性无菌摇瓶中混匀；

5.3.6.4. 在培养摇瓶外壁标记细胞液名称、代次、培养体积、批号以及操作日期。放入培养温度 37.0°C、CO₂ 浓度 6.0%、160 rpm 的二氧化碳摇床中培养，记录开始培养时间，培养时间 3 ± 1 天；

5.3.7. 细胞冻存

5.3.7.1. 确认程序降温盒准备就绪；

5.3.7.2. 准备无菌移液管、500 mL 一次性无菌锥形瓶、2000 mL 一次性无菌锥形瓶、50 mL 离心管、细胞冻存管、冻存盒以及无菌手套等用 75% 酒精消毒后置于生物安全柜中；

5.3.7.3. 开启紫外灭菌，灭菌 ≥ 30 分钟后，开启风机，风机运行 ≥ 30 分钟；

5.3.7.4. 准备冻存管标签；

5.3.7.5. 配制 2 × 细胞冻存液 200 mL；

5.3.7.6. 确认计划冻存支数、计算冻存支数（计划冻存支数 + 10）和冻存装量；

5.3.7.7. 根据公式： $2 \times \text{冻存液体积} = \text{冻存装量} \times \text{计算冻存支数} / 2$ ，计算所需冻存液体积，并吸取相应量的细胞冻存液至 500 mL 一次性无菌锥形瓶中，置于 4°C 环境预冷备用；

5.3.7.8. 将细胞扩增 IV 的一次性无菌锥形瓶外面用 75% 酒精消毒后传至生物安全柜，在生物安全柜中，将细胞悬液摇晃均匀，分别无菌吸取 1 mL 细胞液，进行细胞计数。其中满足细胞密度为： $(3.0\sim 7.0) \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 ≥ 90%，为符合要求；

5.3.7.9. 根据公式，计算摇瓶中活细胞总数 = 该摇瓶中活细胞密度 × 该摇瓶中细胞液体积；

5.3.7.10. 注：摇瓶中细胞液体积 = 接种时细胞液体积 - 10 mL（10 mL 为细胞液体积损耗）

5.3.7.11. 根据公式，需要的活细胞数量 = 冻存活细胞密度 × 冻存装量 × 计算冻存支数 × 120%，计算冻存所需要的活细胞数量。冻存活细胞密度： 1.0×10^7 cells/mL；冻存装量：1.0 mL/支，冻存时多取出 20% 细胞作为冻存操作损失；

5.3.7.12. 根据公式：冻存所需细胞液体积 = 冻存所需的活细胞数 / 细胞液密度，计算冻存所需细胞液体积

5.3.7.13. 在生物安全柜中，用无菌移液管移取（10）中计算的所需细胞液，采用 250 mL、500 mL 无菌离心管进行离心，每

个离心管的装量≤总装液量的 80%，拧紧盖子后传出生物安全柜。离心管传出生物安全柜后，160 g，离心 5 分钟；

5.3.7.14. 在生物安全柜弃上清至无菌摇瓶中，用细胞培养基将离心后的细胞重悬，转移至 500 mL 一次性无菌锥形瓶中，制备成一批均质细胞悬液。取样 1 mL 进行细胞计数，应满足：细胞密度为 $(1.6\sim 2.4) \times 10^7$ cells/mL；细胞活率≥ 90%；

5.3.7.15. 向细胞悬液中缓慢加入等体积的 2× 细胞冻存液，记录细胞悬液体积，2× 细胞冻存液使用体积和加入时间，轻轻混匀细胞悬液，取样 1 mL 进行细胞计数，应满足：细胞密度为 $(0.8\sim 1.2) \times 10^7$ cells/mL；细胞活率≥ 90%；

5.3.7.16. 打开冻存管盖，将细胞悬液移至冻存管，每支冻存管细胞悬液体积为 1.0 mL，盖上冻存管盖后将其依次插入到冻存盒中，

5.3.7.17. 将细胞冻存盒转移至超低温冰箱（温度≤ -80℃），记录入冰箱时间；

5.3.7.18. 记录细胞重悬到入冰箱的时间，从重悬到入冰箱的时间，需满足≤ 90 分钟；

5.3.7.19. 细胞于超低温冰箱（温度≤ -80℃）储存 24 ± 2 h，从超低温冰箱中按编号从前到后顺序依次取出降温盒，记录取出时间。在干冰盒内将细胞冻存盒中的细胞株冻存管按照流水号依次转移至液氮冻存盒中；

5.3.8. 细胞库初步检测

原始细胞库建立完成后，分别取样用于无菌、支原体检测及初步传代稳定性研究，检测结果均为阴性可使用。

5.3.9. 初步传代稳定性

细胞库入液氮 24 小时后，取冻存细胞，进行细胞库初步传代稳定性研究。细胞复苏后连续传代 3~5 次，接种密度为 0.5×10^6 cells/mL，每 2~4 天传代，摇瓶规格为 125mL 一次性无菌锥形瓶，培养体积为 30 mL。细胞传代期间（复苏除外），细胞倍增时间满足 12~20 h，细胞密度满足 $(1.5\sim 7.0) \times 10^6$ cells/mL，细胞活率≥ 90%，视为细胞生长稳定。

6. 慢病毒制备

6.1. 包装细胞复苏前准备：

取培养基放置于 37℃ 水浴锅中预热（或提前室温放置大于 30 分钟）；开启生物安全柜紫外消毒 30 分钟后，吹风自净 15 分钟；取一支 50 mL 离心管，向其加入 9 mL HiLenti[®] 293T 悬浮培养基待用。

6.2. 细胞复融：

从细胞库用预冷的降温盒或干冰快速领取冻存细胞，快速传递到细胞培养间。检查冻存管标签是否完整，冻存管是否破裂。取止血钳夹紧冻存管盖，将冻存管缓慢伸入已经预热到 37℃ 的水浴锅中解冻，需保证冻存管管盖未浸入水浴锅液面以下。使用止血钳夹紧冻存管，在水浴锅中缓慢画波浪线进行解冻（解冻时间不超过 120 秒）待冻存管内的细胞融化至只剩一个小冰球时，从水浴锅中取出。

6.3. 离心重悬：

用 75% 乙醇消毒冻存管表面，迅速将冻存管中的细胞吸到含有 9mL 的 HiLenti[®]293T 悬浮培养基的 50 mL 的离心管中，160 g 常温离心 5 分钟，缓慢弃去上清，按 20 mL/ 支细胞添加 HiLenti[®]293T 悬浮培养基对复苏细胞进行重悬，培养基添加完成后，指尖轻微拨动离心管下端使细胞沉淀缓慢散开，使用移液器轻柔吹吸细胞，使得细胞悬液均匀。

6.4. 补液计数：

6.4.1. 将细胞悬液转移至准备好的 125 mL 无菌摇瓶中，按 6 mM 终浓度添加 200 mM 谷氨酰胺溶液，摇匀取样计数。

6.4.2. 将摇瓶置于二氧化碳摇床中震荡培养，培养条件：37℃，6% CO₂，130 rpm，培养时间为 2~3 天。

6.5. 传代：

6.5.1. 第一次传代：

6.5.1.1. 复苏培养 2-3 天后，将待传代摇瓶从二氧化碳培养箱中取出，放入生物安全柜中，晃动摇瓶使悬液均匀，取出约 0.5

mL 的细胞悬液用于细胞计数，用细胞计数仪测定活细胞密度、细胞活率、结团率。

6.5.1.2. 计数完成后按 0.5×10^6 cells/mL 计算细胞培养基总体积，摇动种子液摇瓶使种子液均匀，使用无菌移液管吸取所需体积的细胞悬液加入至摇瓶中，摇动摇瓶使细胞悬液均匀，按 6 mM 终浓度添加 200 mM 谷氨酰胺（计算时忽略 200 mM 谷氨酰胺溶液加入的体积）。将传代后的细胞放入二氧化碳培养箱中培养 2-3 天。培养条件：37 °C，6% CO₂，130 rpm。

6.5.2. 继续传代：

根据不同方案包装体积，按上一步骤进行多次传代，得到合适体积的细胞（目前摇瓶包装体积固定为 300mL 或 2L），且细胞密度应在 $(5.0-7.0) \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 90\%$ ，即可进行转染。（传代体积及摇瓶规格参考下表）

传代体积	培养容器
20mL	125mL 摇瓶
50mL	250mL 摇瓶
300mL	1500mL 摇瓶
500mL	1500mL 摇瓶
2000mL	5L 摇瓶

6.6. 慢病毒包装

6.6.1. 细胞计数：

将装有待用细胞液的摇瓶，使用 75% 酒精消毒外表面后传入生物安全柜中，动摇瓶使细胞悬液均匀，取 0.5mL 细胞悬液计数，用细胞计数仪测定活细胞密度、细胞活率、结团率。确认细胞密度为 $(5.0-7.0) \times 10^6$ cells/mL，细胞活率 $\geq 90\%$ ，即可进行慢病毒包装。

6.6.2. 转染复合物配制：

6.6.2.1. 吸取总培养体积 10% 的 HiLenti[®]293T 悬浮培养基，平分至 2 个离心管或离心杯中，分别标记为 “HiLenti[®]293T 悬浮培养基” 管和 “DNA” 管。

6.6.2.2. 质粒添加：CAR-T 平台四质粒配比为 HiPlas[™]-LVV-T-OptiMix：载体质粒 =13:7（或其他条件），向 DNA 管中无菌加入质粒，轻轻摇动均匀，室温静置 5 分钟。

6.6.3. 转导试剂添加：

以 HiLenti[®] 转染试剂：DNA=2:1 计算转染试剂用量，吸取相应体积的 HiLenti[®] 转染试剂至 “HiLenti[®]293T 悬浮培养基” 管，摇匀。

6.6.4. 转染复合物混合：

DNA 溶液静置结束后，用移液管将 “PEI” 管内溶液加入到 “DNA” 管中，边加边轻轻晃动 “DNA” 管，待全部加完时，盖上盖子，晃动混匀，室温静置 15 分钟。

6.6.5. 转染：

转染复合物静置时间到，将转染试剂加入对应的摇瓶中，标记好包装批号，晃动混匀后将摇瓶放回培养箱中培养，按照相应培养条件震荡培养。（培养条件为：37 °C、6%CO₂、130 rpm）

6.6.6. 转染后补料：

转染后 6 ~ 8 h，在生物安全柜内向每瓶细胞内加入 20% 包装体积（2 L 包装规模添加 400 mL）的 HiLenti[®] 转染增强剂，2% 包装体积的 200 mM 谷氨酰胺溶液（2 L 包装规模添加 40 mL）。

6.6.7. 收毒:

转染 48h 后, 取样进行细胞计数, 记录细胞密度、细胞活率及结团率。4000 rpm 离心 5 分钟后取上清, 留样检测, -80°C 保存。

7. 慢病毒纯化 (离心重悬工艺)

7.1. 病毒收集:

将粗毒液分装至离心瓶中, 并使用电子天平配平。将配平后离心瓶放置于参数已设置为 4000 g, 22 °C, 5 分钟的离心机中离心。离心后弃去沉淀, 保留上清液。

7.2. 高速离心:

将粗毒上清液分装至 50 mL 离心管中, 并使用电子天平配平。将配平后离心瓶放置于参数已设置为 18000 g, 22 °C, 1 h 的离心机中离心。离心结束后缓缓弃去上清, 保留沉淀。

7.3. 重悬:

使用 5~7 mL HiLenti[®] 慢病毒保存液重悬 6.6.3 中所得的病毒沉淀, 充分混匀得到病毒浓缩液。

7.4. 除菌过滤

7.4.1. 将所用到的物料提前放入生物安全柜中, 并打开生物安全柜的紫外开关进行消毒和吹风自净, 紫外消毒 30 分钟后, 吹风自净 20 分钟;

7.4.2. 在生物安全柜中, 用 0.22 μm 滤器对病毒浓缩液进行除菌过滤, 得到病毒原液。

7.5. 制剂分装

在生物安全柜中, 根据工艺或方案要求的成品规格进行无菌分装, 分装至无菌冻存管中。

7.6. 慢病毒检测

病毒收获后, 可按照需求进行检测, 主要检测指标包括物理滴度 p24、转导滴度、宿主蛋白残留、宿主 DNA 残留、内毒素和无菌等。慢病毒检测完成后, 即可进行后续的细胞感染使用。

8. 故障排除

问题描述	可能原因	解决方案
培养细胞活率较低	摇床的振幅不合适	进行转速调整或 联系厂商进行咨询
病毒滴度较低	GOI 序列太长或者设计复杂	联系厂商进行咨询

9. 关联产品

产品名称	产品货号
宿主细胞残留 DNA (磁珠法) 样本前处理试剂盒	HG-CL100
慢病毒滴度 p24 ELISA 检测试剂盒	HG-P001L
293T HCP ELISA 检测试剂盒	HG-HCP001
Human 残留 DNA 检测试剂盒 (qPCR- 荧光探针法)	HG-HD001
Human 残留总 RNA 检测试剂盒 (RT-PCR 荧光探针法)	HG-HR001

产品名称	产品货号
Human 残留 DNA 片段分析检测试剂盒 (qPCR- 荧光探针法)	HG-HF001
E1A&SV40LTA 残留 DNA 检测试剂盒 (多重 qPCR- 荧光探针法)	HG-EA001
核酸酶 ELISA 检测试剂盒	HG-BE001
质粒残留 DNA 检测试剂盒 (qPCR- 荧光探针法)	HG-ZL001
BSA ELISA 检测试剂盒	HG-BS001
胰蛋白酶 ELISA 检测试剂盒	HG-TR001
BCA 快速蛋白定量检测试剂盒	HG-BC001
慢病毒包装试剂盒	HG-HIV-CUL-001
HiPlas™ -LVV-T-OptiMix (现货质粒)	HG-pHi005-R
CD-19 CAR-T 现货慢病毒	HG-CT1901
CD-19 CAR-NK 现货慢病毒	HG-CN1901

10. 联系方式

地址：江苏省苏州市吴中经济技术开发区越溪街道吴中大道 1463 号

邮编 Postal code: 215104

联系电话 Tel: 400-900-1882

邮箱 E-Mail: info@hillgene.com

网址 Website: <https://www.hillgene.com>

11. 买方须知

我们的产品仅供研究使用。它们不得用于任何其他目的，包括但不限于用于人体、治疗或诊断或任何商业用途。未经我们同意，不得将我们的产品转让给第三方、转售、为转售而修改或用于制造商业产品或向第三方提供服务。

未经我们事先书面批准，不得将我们的产品转让给第三方、转售、为转售而修改或用于制造商业产品或向第三方提供服务。

您在使用本产品时还必须遵守 <https://www.hillgene.com> 上产品网页中描述的任何适用许可要求。您有责任查看、理解并遵守此类声明中规定的任何限制。

更多产品、知识产权和限制使用信息，请访问 <https://www.hillgene.com>。

本文件已经过质量部门的审查和批准。

让细胞药物
谱写生命新篇章

/
CELL THERAPY
INNOVATION INSPIRED

BlueKit[®]
Powered by Hillgene

欢迎订购

江苏谱新生物医药有限公司

地 址：苏州市吴中大道1463号越旺智慧谷4号楼
电 话：400-900-1882
邮 箱：info@hillgene.com
网 址：www.hillgene.com



关注公众号
获取更多咨询

经销商：