

现货质粒 使用说明书

目录 | CONTENTS

1. 产品简介	3
2. 应用.....	4
3. 产品规格	4
4. 存储.....	4
5. 生物安全	4
6. 需要准备的试剂、耗材与设备	4
7. 操作步骤	5
8. 故障排除	6
9. 买方须知	7

1. 产品简介

细胞基因治疗（Cell and Gene Therapies）领域的核心在于基因载体的选择，其中病毒载体以其独特的优势占据了绝对的主导地位。目前慢病毒（LV）仍是临床实践中最为广泛使用的基因传递工具。

质粒 DNA（pDNA）作为关键的起始材料，在早期科研阶段，质粒提取试剂盒因其便捷性，通常能满足小规模慢病毒制备的需求。当转向较大规模慢病毒生产时，试剂盒提取的质粒在产量、纯度及杂质控制等方面难以满足药用级别的严格要求。另外，质粒大规模生产时，其产能瓶颈、项目排期压力，以及对工艺优化的需求，都可能导致交付时间延长、成本增加。谱新生物的现货包装质粒为这些痛点提供了解决方案，可立即供货、降低开发成本、简化供应链，从而确保慢病毒载体的生产。

谱新生物已成功完成了基于第三代四质粒慢病毒包装系统的包膜质粒（VSVG）以及两个包装质粒（Gag/pol、Rev）建库、工艺开发、中试生产以及稳定性研究等一系列工作，并从FDA获得了DMF备案（备案号：MF 30480/0）。此系统能够全面满足慢病毒载体包装的所有基本需求，确保病毒颗粒的完整性与功能性。

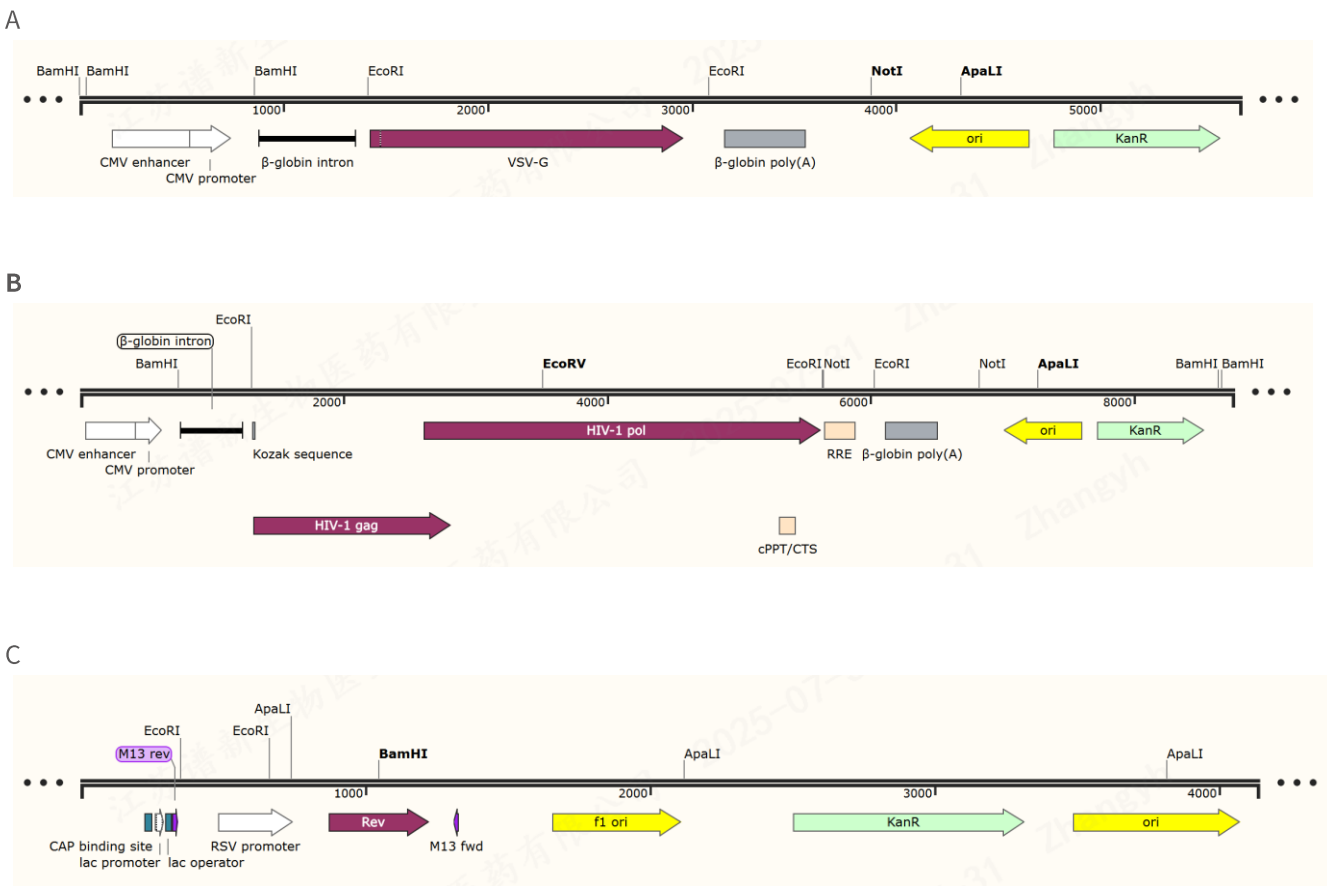


图 1 (A) VSVG 质粒的示意图，该载体含有卡那霉素的抗性基因。(B) Gag/pol 质粒的示意图，该载体含有卡那霉素的抗性基因。(C) Rev 质粒的示意图，该载体含有卡那霉素的抗性基因。

2. 应用

在慢病毒包装过程中，这三种质粒与携带特定目的基因的穿梭质粒协同作用，通过瞬时感染靶细胞的方式，高效重组并包装成具有感染能力的慢病毒颗粒。

3. 产品规格

产品名称	产品货号	规格	效期	存储
HiPlas™LentiHelper-VSVG 包装质粒	HG-pHi001-G	1 mg/mL; 1mL/支	24 个月	-80°C
HiPlas™ LentiHelper- GagPol 包装质粒	HG-pHi002-G	1 mg/mL; 1mL/支	24 个月	-80°C
HiPlas™LentiHelper-Rev 包装质粒	HG-pHi003-G	1 mg/mL; 1mL/支	24 个月	-80°C

△注意：在开始实验前，请仔细阅读说明书，并检查产品信息。

4. 存储

质粒与干冰一起运输。为了长期储存，建议将质粒储存在-80°C。

5. 生物安全

一般安全：使用前请仔细阅读本文件，确保使用本产品的任何人已经了解本文件中的安全信息。

仪器设备安全：在使用仪器或设备之前，请仔细阅读仪器或设备制造商提供的使用说明书及其他安全信息。

化学品安全：实验过程中尽量减少与化学品的接触，处理化学品时需佩戴个人防护用具（如：护目镜、防护手套或防护服）；请在通风环境（如：通风橱）下使用化学品，减少化学品的吸入。

生物危害安全：在使用有潜在生物危害材料之前，个人应通过相应法规或要求的培训；质粒、细胞等生物样本可能造成感染或传播其他危害，请在安全的设备内进行操作，并穿戴合适的安全防护用品。

废弃物处理：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。

6. 需要准备的试剂、耗材与设备

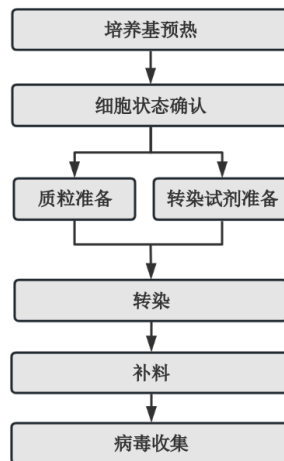
实验前请准备好下列试剂、耗材与设备：

- ◆ A2 型生物安全柜
- ◆ 二氧化碳培养箱
- ◆ 各规格移液器（如 1000μL, 200μL, 10μL 等）
- ◆ 医用低温冰箱
- ◆ 细胞计数仪
- ◆ 电热恒温水浴锅

- ◆ 显微镜
- ◆ 1000 μL , 200 μL , 10 μL 等低吸附枪头
- ◆ 基础培养基
- ◆ 转染试剂 (名称: PEIpro、厂家: Polyplus)
- ◆ 待转染细胞
- ◆ 台盼蓝
- ◆ 离心管
- ◆ 无菌移液管

7. 操作步骤

7.1. 流程图



7.2. 操作步骤

7.2.1.准备工作:

准备含有目的基因的慢病毒载体: 慢病毒包装前,需要先获取含有目的序列的慢病毒载体,可使用试剂盒提取表达目的基因的慢病毒载体质粒,检测浓度及纯度,保证质粒的 A260/A280 在 1.8~2.0 之间。

准备转染用细胞: 细胞状态是影响慢病毒包装效果的关键,尽量使用传代次数较少的细胞;转染之前需确认细胞密度及活率已达到转染要求。

培养基预热: 将基础培养基置于电热恒温水浴锅中 37.0°C 预热 30~60 分钟。

7.2.2.质粒 DNA 与转染试剂混合

准备两个无菌离心管,分别加入起始培养体积 5% 的基础培养基,并标记为“DNA”和“转染试剂”。

按照穿梭质粒 (μg) : VSVG (μg) : gag/pol (μg) : Rev (μg) = 7:3:5:5, 质粒总用量为 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 进行用量计算,分别取载体质粒及辅助质粒加入“DNA”管中轻轻摇动混匀,室温静置 5 分钟。

按转染试剂: 质粒用量=4.0 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 取转染试剂,加入到“转染试剂”管中,混匀,室温静置时间和 DNA 孵育时间同时结束。

静置结束后,用移液管或移液枪将“转染试剂”加入“DNA”管中,边加边轻轻摇动“DNA”管,待全部加完后,盖上盖子,轻轻混匀,室温静置 15 分钟。

7.2.3.转染

静置时间结束后，取出细胞，将转染试剂加入细胞中，摇动混匀后将细胞放回培养箱中继续培养。

7.2.4.补料

转染后 6~8 h，在生物安全柜内向每瓶细胞内加入 20%起始体积的补料培养基，2%起始体积的 200 mM 谷氨酰胺溶液。

7.2.5.病毒收集

包毒结束后，收集上清液，可进行离心或使用 1 μ m 滤器去除细胞碎片。此时上清液中的病毒颗粒可用于检测滴度或感染目的细胞，若对病毒滴度和纯度要求较高，可对上清进行纯化和浓缩。

7.2.6.病毒分装及保存

将病毒上清或浓缩后的病毒分装为合适规格，于-80 $^{\circ}$ C冰箱保存。

△注意事项：

- (1) 滤器应选择低蛋白结合力的纤维素醋酸酯 (CA) 或聚醚砜膜 (PES)，不可使用硝酸纤维素膜 (CN)。
- (2) 质粒浓度由紫外分光光度计测定，不同仪器测出的浓度可能会有轻微差异。
- (3) 为了个人健康，使用期间注意做好防护，请穿实验服并佩戴一次性手套。
- (4) 接触过病毒以及废弃使用的冻存管、枪头、离心管、培养基、培养板等可用 84 消毒液稀释液 (5%) 浸泡一天后处理，也可以常规灭菌 (121 $^{\circ}$ C, 20min) 处理。
- (5) 剩余未使用且未被污染质粒做好标记后，可放置在-80 $^{\circ}$ C冰箱保存以备下次使用，保存时长参照标签有效期，注意冻融次数请保持 3 次以内，超过 3 次以上将严重影响病毒包装效果

8. 故障排除

问题	可能的原因	解决办法
包装效率低的原因	细胞状态	细胞活力、生长状态、生长阶段等都会影响包装效率，建议选择传代次数少，细胞活率高的细胞。避免细胞培养基被各种微生物污染
	优化质粒与转染试剂比例	对于包装效率低的细胞可适当增加转染试剂用量
	质粒质量	应使用纯度高、无污染、无内毒的质粒进行包装
	目的基因及载体质粒	目的基因过大会导致包装效率降低，载体质粒过大也会导致包装效率降低。如果不能控制目的基因大小，可选择小的载体骨架
	收毒时机	转染后须及时观察细胞状态，生长状态良好一般于 48h 收集病毒液

9. 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>。

附件 1: 相关产品 (更多产品可咨询谱新生物 <https://www.hillgene.com>)

产品名称	产品货号
<i>E.coli</i> HCP ELISA 检测试剂盒 (2G)	HG-HCP002-2G
<i>E.coli</i> 残留 DNA 检测试剂盒 (qPCR-荧光探针法)	HG-ED001
<i>E.coli</i> 残留总 RNA 样本前处理试剂盒	HG-CL300
<i>E.coli</i> 残留总 RNA 检测试剂盒 (RT-PCR 荧光探针法)	HG-ER001
卡那霉素 ELISA 检测试剂盒	HG-KA001/HG-KA002
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 快速检测试剂盒	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 DNA 片段分析检测试剂盒 (qPCR-荧光探针法)	HG-HF001
PG13 残留 DNA 检测试剂盒 (qPCR 荧光探针法)	HG-PG001
Hela 细胞残留 DNA 检测试剂盒 (qPCR 荧光探针法)	HG-HD005
Hela 细胞残留 DNA 片段分析检测试剂盒 (qPCR 荧光探针法)	HG-HF004
E1A&SV40LTA 残留 DNA 检测试剂盒 (多重 qPCR 荧光探针法)	HG-EA003
全能核酸酶 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-ZL003
BSA ELISA 检测试剂盒	HG-BS001
胰蛋白酶 ELISA 检测试剂盒	HG-TR001

让细胞药物
谱写生命新篇章

/
CELL THERAPY
INNOVATION INSPIRED



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



关注公众账号
获取更多咨询