Lv-mt·Keima·COX8 滴度液说明书

一、包装清单

产品编号	产品名称	规格	滴度
VGV-B007-24A1	Lv-mt·Keima·COX8 滴度液	100 μL × 10	1E8 PFU/mL

二、产品简介

mKeima 稳定表达一种在酸性和中性条件下分别发射红色和绿色荧光的天然蛋白，可用于线粒体自噬体和线粒体自噬溶酶体的定性和定量分析。通过将 COX8 的前导肽序列与 mKeima 串联起来构成一种融合基因 mt-mKeima，使其所表达的 Keima 蛋白定位于线粒体基质，当线粒体自噬体与酸性溶酶体融合后 Keima 蛋白的荧光信号由绿色转为红色,荧光信号的转换可定量反映线粒体自噬的活性。

三、产品特点

1、即开即用型产品，省去包装工序；

2、滴度为 10^8 PFU / mL，避免反复冻融；

3、根据细胞易感程度，选择合适的 MOI 值；

4、使用转染增强剂 polybrene 可显著提高病毒转导效果。

四、使用方法 *（请根据实际实验设计，本方案仅供参考）*

进行慢病毒转导实验时可使用完全培养液培养细胞。培养液中的血清、双抗或其他营养因子不会影响慢病毒的转导效率。

以 24 孔培养板为例，进行 HEK-293 细胞的感染实验操作步骤如下：

1、 细胞的准备

Day 1 在 24 孔培养板接种若干孔，每个孔内接种 HEK-293 细胞，铺板时细胞的融合率为 50%左右，每孔培养液体积为 300 μL，进行病毒感染时细胞的融合率约为 70%左右。

2、 感染目的细胞

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) co., Ltd
Technical Support: 18362899236
E-mail: 253540644@qq.com

Day 2 根据实验的实际情况和 MOI 值，用培养液稀释慢病毒原液。*(可使用无血清培养液稀释病毒原液。)* 在目的细胞和对照细胞中分别加入计算好的病毒液， 混匀后放于二氧化碳培养箱（37 ℃、5% CO2）孵育过夜。

注意事项：

1）感染前细胞的状态好坏对最终的感染效果高低影响很大，请务必保证加入病毒前， 细胞处于良好的生长状态。

2）若慢病毒对目的细胞的感染效率较低，可通过提高 MOI 值提高病毒的感染效率，也可在培养液中加入助感染试剂 polybrene 来提高病毒的感染效率。

3、更换培养液

Day 3 病毒感染细胞 8～16 小时后，更换培养液。

注意事项：换液具体时间需视细胞状态而定。如果慢病毒对细胞有明显毒性作用，影响细胞生长状态，最短可于加病毒 8 小时后更换新鲜培养液后继续培养。

4、药物筛选

Day 4 病毒感染细胞 48 小时后，以适当浓度的嘌呤霉素对细胞进行药物筛选（需提前做药物杀伤曲线以确定合理的嘌呤霉素浓度）。

5、继续培养和性状测定

Day 6 嘌呤霉素药物筛选结束后，用普通培养基继续培养细胞，进行相关研究。

五、产品保存

- 收到病毒液后请于-80 ℃或更低环境中保存。如需多次使用，请分装后保存，避免反复冻融，以免降低病毒滴度。通常情况病毒可于-80 ℃稳定保存约 6 个月，超过此期限后，请重新检测病毒滴度。
- 维根生物提供的慢病毒单位标识为 PFU/mL， 即每毫升慢病毒液中含有具有生物活性的慢病毒颗粒数。

六、注意事项：

1. 所有操作应在 BSL2 级生物安全柜中进行。
2. 所有操作人员需要穿是实验服、佩戴一次性口罩和手套，避免病毒接触口、眼、鼻、耳、伤口等身体开放性区域。
3. 最大限度减少液体飞溅及气溶胶的产生。实验结束后需要使用 1%SDS 溶液擦拭干净生物安全柜台面。