# ZORIN™ Hi-EFF&Hi-YLD Lenti™ Packaging Kit

# 佐润高效高产慢病毒包装试剂盒

上海佐润生物科技有限公司

SHANGHAI ZORIN BIOTECHNOLOGY CO., LTD

## 产品介绍：

佐润专注于慢病毒包装、稳转株构建、质粒载体改造等细胞基因治疗（CGT）基因递送载体的研发，现拥有成熟的以工具病毒为核心的五大实验研发平台，并具备工具病毒实验、分子克隆实验、蛋白免疫学实验、细胞学实验、动物学实验的 CRO 和 CDMO 的服务能力。

佐润利用高效的工具细胞驯化、高产的病毒载体改造等核心技术，创新性地研发出了佐润高效高产慢病毒包装试剂盒，打破了慢病毒基因递送的技术壁垒，大幅提升慢病毒包装的效率及产量，为细胞基因治疗 CRO 和 CDMO 赋能。科研工作者只需要根据说明书进行“傻瓜式”操作即可高效便捷地包装出优质慢病毒，降低慢病毒的实验门槛，大幅简化实验流程、缩短实验周期。该产品旨在打造“平民化”包装优质慢病毒新时代，全面助力细胞基因治疗。

该试剂盒相较竞品，在滴度、效率和荧光等性能参数上均要优于市面上的其他国产品牌，产品参数达到国内领先，国际先进水平。该试剂盒包装过程简易化仅需 **30 分钟**，最快 **1 天**即可包装出优质高滴度慢病毒，最快 **2 天**即可感染上靶细胞，最快 **4 天**即可筛选出感染效率达 95% 以上的稳转株，最快 **14 天**即可筛选出感染效率 100% 以上的单克隆稳转株。该试剂盒内核心工具、试剂均为自主研发，产品效果已得到众多高校、医院实验室的大量实验验证，该产品技术已申请发明专利。

## 产品信息：

| 产品名称 | 产品货号 | 产品规格 | 有效期 | 储存条件 | 运输方式 |
|---|---|---|---|---|---|
| ZORIN™ Hi-EFF& Hi-YLD Lenti™ Packaging Kit 佐润高效高产慢病毒包装试剂盒 | ZLP1-100T | 100T | 12个月 | -20℃ | 低温运输 |
| | ZLP1-50T | 50T | | | |
| | ZLP1-20T | 20T | | | |
| | ZLP1-10T | 10T | | | |
| | ZLP1-5T | 5T | | | |

| 试剂盒组成 | 储存浓度 | 体积 |
|---|---|---|
| Hi-EFF Lenti™ mix A（试剂A） | 1mg／mL | 40μL/T |
| Hi-YLD Lenti™ mix B（试剂B） | 0.2mg／mL | 40μL/T |
| GFP positive ctl C（阳性对照C） | 0.2mg／mL | 40μL/T |
| Polybrene（感染增强剂聚凝胺） | 5mg／mL | 40μL |
| Puromycin（表达筛选剂嘌呤霉素） | 2.5mg／mL | 40μL |

## 使用方法：

本试剂盒以1个10cm皿包装量（1T）为例。

### Day0：细胞铺板

取对数生长期细胞状态佳的293T细胞（如要达到最佳包装效果需采购佐润驯化的工具细胞**Hi-YLD Lenti™ cell D**，货号ZR-cell-011），按8-10×$10^6$个/皿的细胞数量接种至10cm培养皿中，添加DMEM完全培养基至8-10ml，充分铺匀，37℃培养箱过夜培养。293T细胞状态对包装病毒滴度影响较大，需确保293T细胞状态良好且传代代数较少才可获得高滴度病毒。

### Day1：慢病毒包装

首次使用试剂盒，需用**GFP positive ctl C**（阳性对照C）质粒进行病毒包装来检验自备293T是否适合病毒包装（如包装的病毒上清感染细胞没有或者较少绿色荧光说明自备293T细胞不适合包装病毒，建议购买佐润配套的293T细胞）。包装前先将试剂盒内**Hi-EFF Lenti™ mix A**（试剂A）、**Hi-YLD Lenti™ mix B**（试剂B）、**GFP positive ctl C**（阳性对照C）和无血清、无双抗opti-MEM培养基（或者DMEM培养基）恢复至室温：

1.当细胞密度达到80-90%时，**提前30min换液**（换完全培养基，加不加双抗都无影响）；

2.取1mL无血清、无双抗的培养基置于EP管中，先加入**40μL Hi-EFF Lenti™ mix A**（A使用前需震荡充分或者手动上下颠倒混匀），再加入**40μL Hi-YLD Lenti™ mix B**，然后加入**8μg目的质粒**或**40μL GFP positive ctl C**（阳性对照C）质粒，最后将以上混合液用力上下颠倒混匀10s左右，**37℃培养箱静置30min**（静置过程勿摇晃）；

3.将上述静置后混合液缓慢上下颠倒混匀，用移液枪**逐滴缓慢加入**提前换过液的培养皿中，十字交叉法轻柔混匀，37℃培养箱培养。

### Day2：收集24h病毒上清

包装后24h，将培养上清收集至离心管中并4℃保存，小心加入新鲜培养基8-10mL。

### Day3：收集48h病毒上清

包装后48h，将培养上清收集至离心管中（可根据情况继续收集72h上清）。

### Day4：病毒上清初步纯化

将收集的病毒上清离心，3000rpm／min，4℃，离心10min，取上清，用0.45μm无菌滤器过滤，得到病毒上清原液，可直接进行细胞感染，也可分装后-80℃保存。

### Day5：病毒感染目的细胞

通常情况下包装病毒后24h和48h是病毒出毒高峰期，如追求效率，收集24h病毒上清后即可进行病毒上清纯化并直接进行目的细胞感染。根据经验可在6孔板或3.5cm皿目的细胞密度达到50%左右时加入0.5-2ml病毒上清进行感染，如感染效率较低可弃掉一半细胞继续进行二次或者三次感染并加入终浓度为5μg／mL的**Polybrene**（感染增强剂聚凝胺）直至感染成功。

### Day6：稳转株筛选

以**GFP positive ctl C**（阳性对照C）包装病毒感染目的细胞筛选为例：上清感染目的细胞24h后只要看到绿色荧光或者48h达到50%以上绿色荧光即可添加**Puromycin**（表达筛选剂嘌呤霉素）进行筛选，常规细胞推荐筛选终浓度为2.5μg／mL左右，实际筛选浓度以不感染病毒的空白细胞全部死亡为准。

## ⚠ 注意事项：

本产品仅供科研使用。包装慢病毒及感染细胞建议在生物安全柜中进行操作。



公司地址：上海市闵行区剑川路953弄322号
联系方式： 18801626798
企业邮箱： lvyan@zorin.cn
官方网站： www.zorinbio.com