

慢病毒简易使用指南

慢病毒滴度检测

(通过不同的检测方法, 滴度会有各种原因有所差异, 请在试验过程中注意生物安全要求。)

第一天

1. 铺板: 24-well, 加入 $0.5 \sim 1 \times 10^5$ cells/well, 1ml DMEM + 10% FBS, 37°C、5%CO₂过夜;

第二天

2. 十倍稀释病毒: 稀释液DMEM + 10% FBS + 终浓度5ug/ml Polybrene, 将慢病毒(5~10ul)十倍稀释3~5个梯度;
3. 移去细胞培养液, 加入Step2 稀释后的病毒液0.5ml, 同时建立对照(mock control), 37°C、5%CO₂过夜;

第三天

4. 移去细胞培养液, 加入1ml DMEM + 10% FBS, 37°C、5%CO₂过夜;

第四天

5. 根据细胞状态和类型, 如果必要分出1/3~1/5, 加入1ml DMEM + 10% FBS, 继续培养24h;

第五天

6. 通过荧光显微镜或FACS计数荧光细胞, 结合稀释倍数计算病毒滴度。

靶细胞侵染试验

第一天

1. 靶细胞铺板: 24-well, 加入 0.5×10^5 cells/well (根据细胞种类调整), 0.5ml 完全培养液, 37°C、5%CO₂过夜;

第二天

2. 十倍稀释病毒: 稀释液DMEM + 10% FBS + 终浓度5ug/ml Polybrene, 将慢病毒(5~10ul)十倍稀释3~5个梯度;
3. 移去细胞培养液, 加入Step2 稀释后的病毒液0.5ml, 同时建立对照(mock、negative 和positive control), 37°C、5%CO₂过夜;

第三天

4. 移去细胞培养液, 加入1ml 完全培养液, 37°C、5%CO₂过夜;

第四天

5. 根据细胞状态和类型, 如果必要分出1/3~1/5, 加入1ml 完全培养液, 继续培养24~48h;

第六天

6. 采用适当的实验方法, 分析转入基因的表达或调控。