



慢病毒载体包装 FLAG-ACE2 说明书

一、产品描述

慢病毒载体包装的带有 FLAG 标签的野生型人血管紧张素 I 转换酶 2 (Lentiviral constructs targeting FLAG-tagged wild-type human angiotensin I converting enzyme 2, FLAG-ACE2-wt/FLAG-ACE2)。

慢病毒载体带有 U6 启动子, 在感染病毒后, 载体信息可以整合到受感染细胞的基因组, 进行长时间的稳定表达, 实现基因过表达的可遗传。载体中带有嘌呤霉素 (Puromycin) 标签, 可用于筛选出稳定的靶基因过表达 (Over-expression) 的细胞株。

血管紧张素 I 转换酶 2 (Angiotensin I Converting Enzyme 2) 编码的蛋白属于二肽基羧二肽酶的血管紧张素转换酶家族, 与人血管紧张素 1 转换酶具有相当的同源性。该分泌蛋白催化血管紧张素 I 裂解为血管紧张素 1-9, 血管紧张素 II 裂解为血管扩张剂血管紧张素 1-7。该基因的器官和细胞特异性表达表明, 它可能在调节心血管和肾脏功能以及生育方面发挥作用。此外, 该编码蛋白是人冠状病毒 SARS 和 HCoV-NL63 的刺突糖蛋白的功能受体。慢病毒包装的 FLAG-ACE2 主要用于感染或特别对传统转染试剂难于转染的细胞株、原代细胞、悬浮细胞和处于非分裂状态的细胞, 以建立稳定的 FLAG-ACE2 突变细胞株。

二、组分和使用说明

本产品的滴度 $\geq 10^8$ TU。

1、将细胞均匀等量地种在 60 mm 培养皿, 一个作为对照 (培养皿 1), 一个用以感染病毒 (培养皿 2), 每个皿 4 ml 细胞培养液;

2、当培养皿中细胞长至约 80% 密度时, 吸去培养液, 培养皿 1 换上 4 ml 新鲜培养液, 培养皿 2 换上 2 ml 新鲜培养液并加入 2 ml 病毒液, 同时加入 8 μ g/ml Polybrene 以提高病毒感染效率;

3、24 h 后重复步骤 2;

4、第二次感染病毒 24 h 后, 两个培养皿均分别加入 2 μ g/ml Puromycin 保持 48 h 以筛选感染成功的细胞, 显微镜下观察两个培养皿中死亡细胞情况, 通常培养皿 1 中细胞几乎全部杀死, 而培养皿 2 中只部分杀死或未被杀死。移去培养皿 2 中含死细胞的培养液, 加入新鲜培养液培养。待存活的细胞长起来后, 转移至培养瓶进一步扩大培养用于实验。

5、收集细胞做 Western blotting 鉴定, 若与对照相比, 筛选得到的细胞 ACE2 总蛋白表达量增加 50% 以上, 且出现 FLAG 条带, 说明 FLAG-ACE2 突变体细胞株构建成功。

三、保存条件

-80 $^{\circ}$ C 保存, 1 年有效; -20 $^{\circ}$ C 保存, 1-2 个月内有效; 4 $^{\circ}$ C 保存, 1 周内有效。



南京善本生物技术有限公司

Nanjing Sciben Biotech Co., Ltd.

四、注意事项

- 1、避免反复冻融，反复冻融会降低病毒滴度。病毒融解后，如果在一周内使用，可以放置于 4℃。如果-80℃保存时间超过一年，可能会导致滴度下降，此时建议加大病毒感染量或感染次数。
- 2、慢病毒相关实验请在生物安全柜（BL-2 级别）内操作。
- 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 4、为了您的安全和健康，操作病毒时请穿实验服，佩戴口罩和手套，尽量不要裸露双手及手臂的皮肤。
- 5、操作病毒时特别小心病毒溅出。如果操作时超净工作台有病毒污染，请立即用 70% 乙醇加 1% 的 SDS 溶液擦拭干净。接触过病毒的枪头、离心管、培养板、培养液请于 84 消毒液浸泡后统一处理。
- 6、如需要离心，应使用密封性好的离心管，如有必要请用封口膜封口后离心。
- 7、病毒相关的废弃物需要特殊收集，统一经高温灭菌处理。

南京善本生物技术有限公司

网址: <http://www.sciben.com>

电话: 025-85300038

产品订购: sales@sciben.com

技术支持: support@sciben.com

产品编号: SH1053

生产批号:



善本生物网站



微信公众号