



## 慢病毒载体包装 FLAG-Beclin-1 说明书

### 一、产品描述

慢病毒载体包装的带有 FLAG 标签的野生型人自噬相关基因 6 (Lentiviral constructs targeting FLAG-tagged wild-type human autophagy-related gene 6, FLAG-Beclin-1-wt/FLAG-Beclin-1)。

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, 可用以筛选出稳定的靶基因过表达 (Over-expression) 的细胞株。

自噬相关基因 6 (Autophagy-related gene 6, Atg6/Beclin-1) 是哺乳动物中一种自噬蛋白质和肿瘤抑制分子, 它在自噬和抑制肿瘤方面起重要作用。Beclin-1 与 Vps34/PtdIns3KC3、Vps15 共同组成了诱导自噬体形成的核心结构 (Core), 是研究自噬的重要自噬相关蛋白。慢病毒包装的 FLAG-Beclin-1 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-Beclin-1 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 Beclin-1 总蛋白表达量增加 50% 以上, 且出现 Flag 条带, 说明 Beclin-1 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。

### 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 $^{\circ}$ C。如果 -80 $^{\circ}$ C 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。



南京善本生物技术有限公司

Nanjing Sciben Biotech Co., Ltd.

- 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](mailto:sales@sciben.com)

技术支持: [support@sciben.com](mailto:support@sciben.com)

产品编号: SH1044

生产批号:



善本生物网站

微信公众号