



慢病毒载体包装 shRNA Atg5 说明书

一、产品描述

慢病毒载体包装的自噬相关基因 5 (Lentiviral shRNA constructs targeting autophagy-related gene 5, shRNA Atg5)。

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, 实现基因沉默的可遗传。载体中带有嘌呤霉素 (Puromycin) 标签, 可用以筛选出稳定的靶基因下调 (Downregulation) / 沉默 (Silencing) 的细胞株。

自噬相关基因 5 (Autophagy-related gene 5, Atg5) 蛋白在自噬体形成过程中起作用, 与 Atg12 形成 Atg5-Atg12 复合物在自噬体膜的弯曲和 Atg8 (LC3) 的招募上发挥重要作用, 是研究自噬的重要自噬相关蛋白。慢病毒 shRNA Atg5 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, 以建立稳定下调/沉默 Atg5 的细胞株。

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 3 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 2.5 ml 新鲜培养液, 培养皿 2 换上 1 ml 新鲜培养液并加入 1.5 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 Atg5 表达量减少 $\geq 90\%$, 说明成功建立了下调/沉默 Atg5 的细胞株。

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。

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



南京善本生物技术有限公司
Nanjing Sciben Biotech Co., Ltd.

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：SH1018

生产批号：



善本生物网站

微信公众号