



## 慢病毒载体包装 shRNA mTOR 说明书

### 一、产品描述

慢病毒载体包装的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（Lentiviral shRNA constructs targeting mammalian target of rapamycin, shRNA mTOR）。

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。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（Mammalian target of rapamycin, mTOR）是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，可整合细胞外信号，磷酸化下游一系列靶蛋白，如 S6K1 及 4E-BP1，影响基因转录与蛋白质翻译，从而参与调控细胞生长、增殖等过程。mTOR 的生物学功能的多样性，使其成为当今生物研究的焦点之一。mTOR 与蛋白质合成、免疫、肿瘤、细胞凋亡及自噬等均有联系。慢病毒 shRNA mTOR 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 mTOR 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  $\mu\text{g/ml}$  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  $\mu\text{g/ml}$  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 mTOR 表达量减少 $\geq 90\%$ ，说明成功建立了下调/沉默 mTOR 的细胞株。

### 三、保存条件

-80℃ 保存，1 年有效；-20℃ 保存，1-2 个月内有效；4℃ 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℃。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。



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: SH1006

生产批号:



善本生物网站



微信公众号