



## 腺病毒载体包装 Ad-4EBP1-5A 说明书

### 一、产品描述

重组腺病毒表达带有 HA 标签的持续去磷酸化突变 4E-BP1 (T36A、T45A、S64A、T69A、S82A) (Recombinant adenoviruses expressing hemagglutinin (HA)-tagged constitutively hypophosphorylated mutant 4E-BP1 (T36A, T45A, S64A, T69A and S82A), Ad-4EBP1-5A)。

4E-BP1 即真核细胞翻译起始因子 4E 结合蛋白 1, 位于 mTOR 信号通路下游。mTORC1 介导的磷酸化驱动 4E-BP1 从 eIF4E 上解离, 促进 eIF4F 复合物的组装, 进行翻译, 促进蛋白质合成, 调节下游蛋白质的转录和翻译。

腺病毒感染细胞后为瞬时表达, 通常不会与基因组 DNA 重组, 不能用于筛选稳定细胞株。本产品感染体内外细胞后, 有效表达时间通常不少于 7 天, 不同细胞和组织的有效表达时间有所不同。感染 10-14 天后蛋白的表达很可能会大大减弱。

### 二、组分和说明

本产品的滴度 $\geq 2 \times 10^9$  pfu/ml。

如果按照 20 MOI 感染 6 孔板的细胞, 每孔 50 万细胞计算, 200  $\mu$ l 本产品共可以感染 40 个孔; 如果按照 20 MOI 感染 24 孔板的细胞, 每孔 10 万细胞计算, 200  $\mu$ l 本产品共可以感染 200 个孔。

如果 MOI 值提高, 则相应可以感染的孔数会减少; 如果 MOI 值降低, 则相应可以感染的孔数会增加。

### 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、使用说明

1. 感染条件的确定: 不同种类的细胞感染所需的 MOI 值是不同的, 如果是初次使用腺病毒感染需要通过实验确定最佳的感染条件。

1.1 细胞培养 (以 6 孔板 HeLa 细胞为例, 其它培养板或培养皿参考 6 孔板进行操作): 感染前 1 天在 6 孔板中以  $5 \times 10^5$ /孔接种 HeLa 细胞, 每孔加入 2 ml 完全培养液 (具体的接种数量由细胞大小和细胞生长速度而定), 使第 2 天病毒感染时细胞密度达到约 70% 左右。

1.2 按照 MOI 分别为 2、5、10、20、40, 计算所需病毒量, 计算方法请参考附录。

1.3 冰上解冻病毒, 混匀后备用。

1.4 从细胞培养箱中取出 6 孔板, 在显微镜下确定每孔的细胞均生长良好, 分别加入特定 MOI 值的病毒液, 同时设置未加入病毒的细胞孔作为对照组。对于培养液体积比较小的多孔板, 例如 96 孔板和 48 孔板, 也可以先把病毒用培养液稀释至所需的 MOI 值后再加入。

1.5 感染后约 12 h, 除去含有病毒的培养液, 每孔加入 2 ml 新鲜的完全培养液, 继续培养 24 h 后, 收集细胞做 Western blotting, 或提取 mRNA 做 qPCR。以不显著影响细胞生长、并由较强蛋白表达的 MOI 值为最佳条件。



2. 感染细胞：根据步骤 1 获得的最佳 MOI 进行感染实验。

## 五、注意事项

1、反复冻融会降低病毒滴度，如有必要请在收到本产品后分装保存。病毒融解后，如果在 1 周内使用，可以放置于 4℃。如果 - 80℃ 保存时间超过 1 年，可能会导致滴度下降，此时建议重新测定病毒滴度。

2、腺病毒感染需要细胞表面的 CAR 受体，请确认拟使用的细胞或组织可以被腺病毒感染。

3、本产品使用前请仔细阅读《腺病毒使用安全规范》。本产品生物安全等级为 Biosafety Level 1 (BSL-1)，没有确凿证据显示会导致健康成人产生疾病，可以按照常规的微生物实验操作要求进行操作。

4、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。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 六、附录

### 病毒 MOI 的计算

MOI (Multiplicity of Infection)定义：病毒感染细胞时，病毒数量与细胞数量的比值。

pfu (plaque forming units)定义：具有生物活性的病毒颗粒数量。

可以根据如下公式计算所需 pfu：

所需 pfu=细胞数量×MOI

例如，需要向  $1 \times 10^5$  细胞中加入 20 MOI 的病毒，即所需 pfu =  $(1 \times 10^5 \text{ cells}) \times (20 \text{ MOI}) = 2 \times 10^6 \text{ pfu}$ 。若病毒母液滴度为  $1 \times 10^9 \text{ pfu/ml}$ ，则细胞培养液中应加入  $(2 \times 10^6 \text{ pfu}) / (1 \times 10^9 \text{ pfu/ml}) = 0.002 \text{ ml}$  病毒母液，即 2  $\mu\text{l}$  病毒母液。

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：AD1010

生产批号：



善本生物网站



微信公众号