



ssrAAV6-CMV-EGFP转导试剂盒

Cat.NO. ZC5009

产品介绍:

重组腺相关病毒 (Recombinant adeno-associated virus, rAAV) 具有免疫原性低、转染效率高、表达时效长的特点, 是进行外源基因转导和表达研究的优良载体, 也是目前唯一获得欧盟委员会 (EC) 认证上市的基因治疗药物Glybera所使用的载体。ssrAAV6-CMV-EGFP转导试剂盒主要针对实验细胞和动物进行外源基因的转导与表达研究, 具有操作简单、基因导入效率高、宿主范围广和表达时效长的特点。

产品组成:

试剂盒组成	包装规格
ssrAAV6-CMV-EGFP	10^{12} vg /mL x 50 μ l x 20支
稀释液	2mL x 1支
质控报告	1份
说明书	1份

载体信息:

ssrAAV6-CMV-EGFP载体			
血清型	基因组结构	启动子	荷载基因
6	单链 (ss)	CMV	EGFP

溶剂信息:

pH值	组分
7.4	NaCl、KCl、Na ₂ HPO ₄ 、K ₂ HPO ₄ 、C ₆ H ₁₄ O ₆ 、H ₂ O

储存条件:

病毒载体在-80°C、-20°C和4°C下的有效期分别为6个月、1个月和5天, 避免反复冻融。稀释液的保存温度不高于8°C, 一年有效。

使用说明:

1. 细胞实验

1.1实验宿主细胞接种于培养板, 确保接种后16~24h细胞汇合度至70~80%;

1.2在无菌条件下按MOI (感染复数) 为 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ vg/cell取适量ssrAAV6-CMV-EGFP载体用完全培养基稀释 (如果用量过少可先用稀释液对病毒进行稀释), 再用含病毒的培养基给细胞换液。鉴于不同细胞的转导效率差异较大, 最好进行系列MOI值预实验, 确定最佳MOI值;

1.3放入培养箱中继续培养, 24~36h后可进行EGFP基因水平检测 (Realtime PCR), 60~72h后可进行EGFP蛋白水平检测 (Fluorescence Microscope、Western Blot、Flow Cytometry);

1.4 基因表达时长最多可达6个月, 但不同实验条件下可能存在差异。

2. 动物实验

2.1 在洁净条件下饲养实验动物至适龄;



2.2 根据不同给药途径和动物体重使用一次性无菌注射器吸取适量ssrAAV6-CMV-EGFP载体(如果用量过少可先用稀释液对病毒进行稀释), 更换合适针头对实验动物进行给药。实验动物按单位体重(g)计, 静脉注射、原位注射、肌肉注射和腹腔注射的推荐用量为 $10^9 \sim 10^{10}$ vg、 $10^8 \sim 10^9$ vg、 $10^8 \sim 10^9$ vg和 $10^{10} \sim 10^{11}$ vg。鉴于不同动物、不同组织器官的转导效率差异较大, 最好进行病毒用量的预实验, 确定最佳病毒用量;

2.3 给药24~36h后可进行EGFP基因水平检测(Realtime PCR), 60~72h后可进行EGFP蛋白水平检测(Fluorescence Microscope、Western Blot、Immunostaining);

2.4 基因表达时长最多可达6个月, 但不同实验条件下可能存在差异。

注意事项:

1. 本产品属基因工程产品, 不推荐重复多次使用, 使用前颠倒混匀或吹打数次, 不可超声、高温和激烈涡旋。

2. 有效期前使用, 逾期活性降低甚至完全失活。

3. 用试剂盒中配套稀释液进行病毒载体稀释, 改变溶剂可造成载体稳定性下降甚至失活。

4. 勿与其他转染试剂同时使用。

5. 本品为基因生物活性物品, 请操作人员做好自身防护。相关用品、废弃物遵照国家生物制品安全法律法规处理。试剂盒仅供实验室研究使用, 请勿用于医药、食品、化妆品及临床诊疗。

参考文献:

[1] Xu Ruian, Tang Mingqing, Diao Yong. Adeno-associated virus -From virus to clinical. Beijing: Science Press. 2014.

[2] Zhou J, Yang X, Wright JF, High KA, Couto L, Qu G. PEG-modulated column chromatography for purification of recombinant adeno-associated virus serotype 9. *J Virol Methods*. 2011;173(1):99-107.

[3] Li H, Tuyishime S, Wu TL, Giles-Davis W, Zhou D, Xiao W, High KA, Ertl HC. Adeno-associated virus vectors serotype 2 induce prolonged proliferation of capsid-specific CD8+ T cells in mice. *Mol Ther*. 2011; 19(3):536-46.

[4] Cai KX, Tse LY, Leung C, Tam PK, Xu R, Sham MH. Suppression of lung tumor growth and metastasis in mice by adeno-associated virus-mediated expression of vasostatin. *Clin Cancer Res*. 2008; 14(3):939-49.

[5] Ma H, Liu Y, Liu S, Xu R, Zheng D. Oral adeno-associated virus-sTRAIL gene therapy suppresses human hepatocellular carcinoma growth in mice. *Hepatology*. 2005; 42(6):1355-63.

[6] Sun X, Krissansen GW, Fung PW, Xu S, Shi J, Man K, Fan ST, Xu R. Anti-angiogenic therapy subsequent to adeno-associated-virus-mediated immunotherapy eradicates lymphomas that disseminate to the liver. *Int J Cancer*. 2005;113(4):670-7.

[7] Ma H, Liu Y, Liu S, Kung HF, Sun X, Zheng D, Xu R. Recombinant adeno-associated virus-mediated TRAIL gene therapy suppresses liver metastatic tumors. *Int J Cancer*. 2005; 116(2):314-21.

[8] Ma H, Liu Y, Liu S, Xu R, Zheng D. Oral adeno-associated virus-sTRAIL gene therapy suppresses human hepatocellular carcinoma growth in mice. *Hepatology*. 2005; 42(6):1355-63.

[9] Hauck B, Zhao W, High K, Xiao W. Intracellular viral processing, not single-stranded DNA accumulation, is crucial for recombinant adeno-associated virus transduction. *J Virol*. 2004; 78 (24):13678-86.

[10] During MJ, Symes CW, Lawlor PA, Lin J, Dunning J, Fitzsimons H, Poulsen D, Leone P, Xu RA, et al An oral vaccine against NMDAR1 with efficacy in experimental stroke and epilepsy. *Science* 2000, 287: 1453-60.

[11] During MJ, Xu RA, Young D, Kaplitt M, Sherwin R, Leone P Peroral gene therapy of lactose intolerance using an adeno-associated virus vector. *Nat Med* 1998, 4: 1131-6.