

产品介绍

本产品是以pLVX-sh-zsGreen-Puro为载体质粒构建的PDI sh-RNA表达质粒，经蛋白表达水平验证，确认为有效PDI sh-RNA表达质粒。

载体信息

载体名称	pLVX-sh-zsGreen-Puro
质粒类型	慢病毒表达载体；shRNA表达载体；三启动子载体
克隆方法	多克隆位点，限制性内切酶
启动子	U6；PGK；CMV
5' 测序引物及序列	U6：GACTATCATATGCTTACCGT
载体抗性	氨苄青霉素（Ampicillin）
筛选标记	嘌呤霉素、zsGreen
克隆菌株	E.coli cells（RecA-）推荐:Stbl2，OmniMAX 2 T1R
宿主细胞（系）	哺乳动物细胞
备注	pLVX-sh-zsGreen-Puro慢病毒表达载体是基于HIV的慢病毒载体； 用于shRNA表达和克隆；高效转染细胞，建立稳定细胞系； U6启动子驱动shRNA的高水平表达，PGK及CMV启动子驱动报告基因的中等水平的表达。
稳定性	稳表达
组成型/诱导型	组成型
病毒/非病毒	慢病毒（HIV）

包装规格

10 ug

保存条件

-20℃保存，有效期12个月。

使用方法

慢病毒包装

1. 提前将需要转染的质粒准备好（包装质粒PSPAX2和PMD2.G）。

2. 转染前一天铺好293T细胞。确保转染时293T细胞密度达到70%-90%。

3. 转染时包装质粒PSPAX2和PMD2.G按质量比2:1混合，命名mix-1。以一个六孔板的孔为例，转染体系：
HEPES缓冲液：100 uL
mix-1：2 ug
shRNA-plasmid：2 ug
转染试剂（如PEI等）：6 uL

室温静置30 min，然后均匀的加入到293T细胞里面，轻轻摇晃六孔板，最后放入37℃培养箱。

4. 转染完6h之后给293T细胞换新鲜完全培养基。

慢病毒感染靶细胞

1. 转染24h后准备需要的感染的靶细胞的种类和数量，要求细胞密度在转染48h时达到50%-60%。

2. 转染48h后收取含慢病毒培养上清感染靶细胞（慢病毒感染细胞要在生物安全柜中进行操作）：

① 将polybrene加入到新鲜的培养基中，使polybrene终浓度为8 ug/mL，配成混合液。

② 取出293T细胞，将慢病毒上清收集到2 mL的冻存管中，4000 rpm，1 min离心。

③ 将靶细胞中原有的培养基去除，然后加入1 mL的慢病毒和1 mL的混合液。轻轻摇晃六孔板，混匀。

④ 感染18h后进行细胞换液，去除原有的培养基，换上新鲜的培养液。

⑤ 感染48h后进行检测或Puromycin药物筛选细胞。

注意事项

1. 慢病毒操作时最好使用生物安全柜（BL-2 级别），如使用普通超净工作台操作病毒，一定要关闭风机。

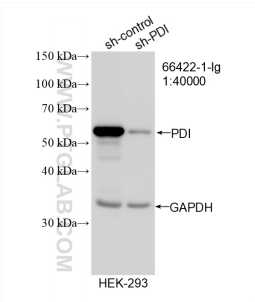
2. 慢病毒操作时必须穿实验服，戴口罩和手套，尽量不要裸露双手及手臂的皮肤。

3. 操作慢病毒时必须特别小心，不要产生气雾或飞溅。如果操作时超净工作台有病毒污染，立即用10%次氯酸钠溶液（或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、培养液于 10%次氯酸钠溶液内浸泡1h以上后弃去。

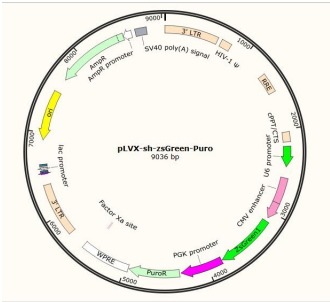
4. 如需要离心，应使用密封性好的离心管。

5. 慢病毒操作完毕后，脱掉手套，用肥皂和水清洗双手。

Validation Data



验证信息



载体图谱