

病毒转导增强剂Vectofusin-1(92-01-0183)

[组分]

Vectofusin-1: 多肽

[规格] 1 mg, 用于制备高达 100 mL 的转导介质。

[纯度] $\geq 92\%$ (HPLC)

[产品形式] 含有稳定剂的冻干肽。

[储存条件] 冻干产品在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存。有效期见产品标签。复溶后的等分样品应保存在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 或更低温度下。避免反复冻融。

[背景信息]

使用逆转录病毒载体将基因转移到悬浮细胞（例如 T 细胞或造血干细胞）中，可应用于多种疾病治疗，包括单基因疾病，传染性疾病和癌症。使用逆转录病毒载体对悬浮细胞进行病毒转导通常效率低下，需要使用转导增强子。Vectofusin-1 是一种完全合成的无毒阳离子的合成肽，具有病毒转导增强功能，可通过少量逆转录病毒载体实现更高的转导水平。当添加到培养基中时，Vectofusin-1 会促进几种逆转录病毒假型进入靶细胞。

[试剂要求]

- 不含血清或脂质的转导培养基，如 IMDM 或 RPMI。
- （可选）TexMACS 培养基，研究级

- （可选）人 T 细胞激活试剂
- （可选）人造血干细胞扩增培养基 XF
- （可选）人造血干细胞扩增混合物

[复溶建议]

1. 冻干多肽复溶时，将小瓶从 -20 °C 取出，升温至室温。

▲ 注意：请勿拔出胶塞打开小瓶。

2. 为溶解 Vectofusin-1，在无菌注射器（2 mL）中注入 1000 µL 无菌水。

3. 用无菌针头穿过橡皮塞中心，将水缓慢注入装有冻干 Vectofusin-1 的小瓶中。

4. 涡旋溶液，使冻干多肽完全溶解。Vectofusin-1 的储备液浓度为每毫升 1 毫克。

5. 取下橡胶塞，用移液管吸出储液。

6. 为避免重复冻融，从储液中制备工作等分。

7. 将等分工作液保存在 -70 °C 下。

[转导]

▲ 转导前，确定细胞浓度，以便确定达到所需感染倍数（MOI）所需的病毒载体量。

▲ Vectofusin-1 的增强效果可能因载体构建和假型而异。

1. 按照所需的格式和细胞浓度制备细胞。

▲ 注意：体积应足够小，以便加入病毒载体上清液、Vectofusin-1 和不含血清或脂质的普通培养基。

计算示例请参阅下文 “Vectofusin-1 转导混合物的制备示例”。

2. 室温解冻等分的 Vectofusin-1。使用前彻底涡旋。
3. 转导所需的 Vectofusin-1 最终浓度为总培养液体积的 10 $\mu\text{g/mL}$ 。
4. 加入普通培养基，分别稀释病毒载体或病毒上清液和 Vectofusin-1。两种稀释溶液的最终体积应完全相同。

▲ 注：计算示例请参阅下文 “Vectofusin-1 转导混合物的制备示例”。

5. 将稀释的病毒载体或病毒上清液与稀释的 Vectofusin-1 溶液混合，涡旋或轻弹混合物。
6. 将病毒载体或病毒上清液与 Vectofusin-1 的混合物加入细胞悬液中，用移液管上下移动。

▲ 注：从混合病毒载体和 Vectofusin-1 到将混合物加入目标细胞之间的时间不应超过 10 分钟。

7. 在 37 °C 下孵育。
8. (可选) 为达到更高的转导效果，将细胞样本在 32 °C 下以 400 $\times$ g 离心 1-2 小时，然后在 37 °C 下静置培养。转导 6-24 小时后用转导培养基清洗细胞一次。
9. 在 37 °C 下培养细胞。

Vectofusin-1 转导混合物的制备实例

Vectofusin-1 既可用于纯化的病毒载体，也可用于细胞培养上清。下面举例说明如何用不同体积的病毒载体或病毒上清以及不同的细胞培养形式制备转导溶液。

	96 孔 (μL)	96 孔 (μL)	Prodigy (mL)
逆转录病毒上清液	20	-	15
纯化载体	-	5	-
培养基	30	245	-



FOCUS ON CELL THERAPY

稀释病毒载体溶液	50	250	15
Vectofusin-1 (1000 µg/mL)	2	20	1
培养基	48	230	14
稀释的 Vectofusin-1 溶液	50	250	15
已经在培养中的细胞体积	100	1500	50+20*
加入病毒载体和 Vectofusin-1 后的总培养体积	200	2000	100

*在 Prodigy T 细胞转导过程（TCT 过程）的 “转导 ” 程序活动中提供的额外培养基。