

靶向人造血干细胞慢病毒包装服务
(适用于感染人HSC细胞)

Catalog #LVh34

#Version 26.01



Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd
Make Research Easier

产品简介

传统慢病毒载体采用VSV-G（水疱性口炎病毒糖蛋白）作为伪型包膜蛋白，具有广谱嗜性，可感染几乎所有类型的哺乳动物细胞。然而，慢病毒无法感染/较难感染人的造血干细胞（hematopoietic stem cells, HSCs）细胞等。Lv34靶向性慢病毒通过包膜筛选和工程化改造，赋予慢病毒颗粒更好地感染目标细胞的能力以及溶酶体逃逸能力。

- 感染效率大于30%
- 分选后的HSCs当天即可感染病毒，无需等待培养
- 病毒感染无需离心感染的步骤

试剂盒组分

产品名称	存储条件	规格	功能
LVh34	-80°C保存	100 μL x 10	特异性感染人HSC细胞

试剂要求

细胞分选试剂

- anti-human CD34 Nanobeads（有柱阳选，小包装） | 货号：PH034
- FACS buffer | 货号：EISO0500

使用方法和操作步骤

人CD34⁺细胞分选

使用英诺思anti-human CD34 Nanobeads (PH034) 通过有柱阳性选择法从人外周血单个核细胞 (PBMC) 或脐带血单核细胞中分选CD34⁺造血干/祖细胞 (HSPC)。

- (1) 采集人外周血或脐带血, Ficoll密度梯度离心获取PBMC
- (2) 计数细胞, CD34⁺细胞在PBMC中占比约0.5-2%
- (3) 按PH034说明书加入CD34 Nanobeads, 4°C孵育30分钟
- (4) 将分选柱 (CBS1005) 置于磁力架L1/L4 (CBS2002/CBS2003) 上, 用缓冲液润洗
- (5) 加入标记后的细胞悬液, 磁珠标记的CD34⁺细胞被截留在柱内
- (6) 洗涤分选柱3次去除非特异性结合细胞
- (7) 将分选柱从磁力架上取下, 加缓冲液后用活塞推洗, 收集CD34⁺细胞; 通常需要二次过柱, 提高纯度
- (4) 流式鉴定CD34⁺纯度

注: CD34⁺ HSPC无需激活即可直接感染, 因为慢病毒可以感染分裂期和非分裂期细胞。但适度细胞因子刺激 (SCF/TPO/Flt3L) 可提高感染效率并且保持细胞存活。

CD34⁺细胞培养与预处理 (仅供参考)

分选后的CD34⁺ HSPC需在含细胞因子的培养基中短暂培养 (12-24小时), 使细胞进入活跃状态, 提高慢病毒感染效率。

- (1) 将分选的CD34⁺细胞以 $2-5 \times 10^5$ /mL接种于无血清培养基 (第三方)
- (2) 加入SCF (100 ng/mL) + TPO (50 ng/mL) + Flt3L (100 ng/mL) (均需第三方采购)
- (3) 37°C、5% CO₂培养12-24小时
- (4) 感染前计数细胞, 活率应 $\geq 90\%$

Lvh34慢病毒感染

将靶向人CD34的Lvh34慢病毒加入CD34⁺细胞中进行感染, 同时设置VSV-G广谱慢病毒作为对照。

- (1) 将预处理后的CD34⁺细胞以 2×10^5 /孔接种于96孔板 (或24孔板), 每孔100-200 μ L
- (2) 按MOI=10-50加入Lvh34慢病毒; 设置对照孔: VSV-G广谱伪型慢病毒
- (3) 感染后24-72小时通过流式细胞术检测GFP表达, 评估感染效率和靶向特异性。
- (4) 收集感染细胞, PBS洗涤1次, 进行流式分析