

mCAR-hCD19逆转录病毒

Catalog #RV02

RV02-02, 100 μ L x 2
RV02-10, 100 μ L x 10
RV02-20, 100 μ L x 20

#Version 25.01



Immuno-X™

Eynos LifeScience co., Ltd
Make Research Easier

产品简介

本产品为靶向人源CD19分子的小鼠CAR-T逆转录病毒，用于制备小鼠CAR-T细胞。本产品CAR的核心结构为：CD8 Signal、hCD19 scfv、CD8 hinge、CD8TM、CD28、CD3 ζ 。本产品感染小鼠CD8 T细胞后，可以杀伤hCD19阳性的细胞。pMSCV（Murine stem cell virus，鼠干细胞病毒）逆转录病毒衍生于鼠骨髓增生性肉瘤病毒（PCMV）和莫洛尼鼠白血病病毒（MMLV），表达一种单嗜性的被膜，只能感染小鼠和大鼠细胞，具有较强的安全性。

本产品配套的肿瘤细胞MC38-hCD19-Luciferase(#CL008)，是在MC38细胞的基础上过表达了human CD19分子，用于CAR-T的识别；同时过表达了Luciferase荧光素酶，用于体内体外的CAR-T杀伤检测。

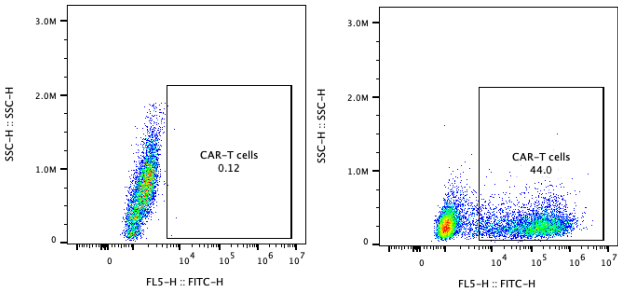
产品信息

	逆转录病毒：pMSCV-mCAR-hCD19	对照病毒：pMSCV-GFP
交付内容	- 小量制备：100 μL x 2, Titer $\geq 1e+8$ TU/mL - 中量制备：100 μL x 10, Titer $\geq 1e+8$ TU/mL - 大量制备：100 μL x 20, Titer $\geq 1e+8$ TU/mL	- 小量制备：100 μL x 2, Titer $\geq 1e+8$ TU/mL - 中量制备：100 μL x 10, Titer $\geq 1e+8$ TU/mL - 大量制备：100 μL x 20, Titer $\geq 1e+8$ TU/mL
核心元件	anti-hCD19-scFv-mCD28-mCD3ζ	GFP
病毒缓冲液	HBSS缓冲液	HBSS缓冲液
运输条件	干冰运输/4度运输	干冰运输/4度运输
保存条件	-80冰箱保存	-80冰箱保存

注意事项

- 收货后，立即将逆转录病毒放入-80冰箱保存，病毒滴度可维持在6个月以上。
- 使用时，预先准备冰水浴盒，在-80冰箱取出病毒后，放置于冰水浴盒中缓慢溶解，病毒滴度不会显著降低。
- 避免反复冻融病毒，若一次未使用完的病毒可放置于4度冰箱，病毒滴度可维持3-7天。

数据展示



- 如图：采用英诺思生物小鼠CD8 T细胞分选试剂盒（#SN4102）分选小鼠脾脏中的CD8 T细胞，用小鼠T细胞激活磁珠（#AM2001）激活24-36 h后进行病毒（逆转录病毒*mCAR-hCD19，#RV02）感染。病毒感染后72 h采用Anti-G4Slinker-FITC检测CAR阳性率可达40%以上。



操作步骤（T细胞激活）

步骤	操作说明
1	按照小鼠CD3或者CD8 T细胞分选试剂盒（#SN4101或者#SN4102）分选小鼠CD3或者CD8 T淋巴细胞。
2	将 2×10^6 个小鼠T淋巴细胞、50 μ L小鼠T细胞激活磁珠（#AM2001）混匀于1ml 小鼠T淋巴细胞培养基（#C400100）中（需加入终浓度为100U/mL的IL2细胞因子），转移到加入non-treated 24孔细胞培养板的一个孔中。
3	激活36-48 h，可见T细胞聚团明显，并且T细胞呈膨大透亮。
4	将激活的小鼠T淋巴细胞吸取至无菌流式管中，吹打均匀，放置于磁极中3min，去除磁珠，并吸取激活的 T淋巴细胞。
5	细胞采用300 g离心5 min后，重悬于 1×10^6 /mL的小鼠T淋巴细胞培养基中（需添加终浓度100U/mL的IL2）。

操作步骤（逆转录病毒感染小鼠T细胞）

步骤	操作说明
准备工作	Day0：在 24 孔 non-treated 细胞培养板中加入 1ml 20 μ g/ml Retronectin，用封口膜封闭培养板后，4°过夜包被。
准备工作	Day0: 取小鼠原代 T 细胞，计数后重悬至小鼠 T 淋巴细胞专用培养基（#C400100）中，浓度 2×10^6 /mL。取 1 mL (2×10^6 个) T 细胞铺到 12 孔板中，加入 50 μ L 小鼠 T 细胞激活磁珠（AM2001）和终浓度 100U/mL 的 IL2 细胞因子，对 T 细胞进行激活。
1	Day1：将纯化的mCAR-hCD19逆转录病毒用PBS进行稀释，按5、10、20、50 μ l加入至24孔Retronectin 包被好的non-treated细胞培养板中，2000g-4000g，4°C水平离心3 h。
2	Day1：病毒吸弃上清，每孔加入 8×10^5 T细胞，封口膜封住孔板四周，300 g平转离心5 min后，放入细胞培养箱。
3	Day3：48 h后可观察到绿色荧光表达（对照病毒），并将细胞按1:3进行传代。
4	Day4：72 h 后，可流式细胞术测定 CAR 阳性率。可采用 Protein L-FITC 或者 Anti-G4Slinker-FITC 与小鼠 CD8 T 细胞室温共孵育 30 min，30 min 后流式细胞术测定 CAR 阳性率。