400-077-2566

WWW.WZBIO.COM.CN

官方公众号平台

更多科研小技能

山东维真生物科技有限公司

地址: 山东省济南市高新区港源四路416号维真产业园

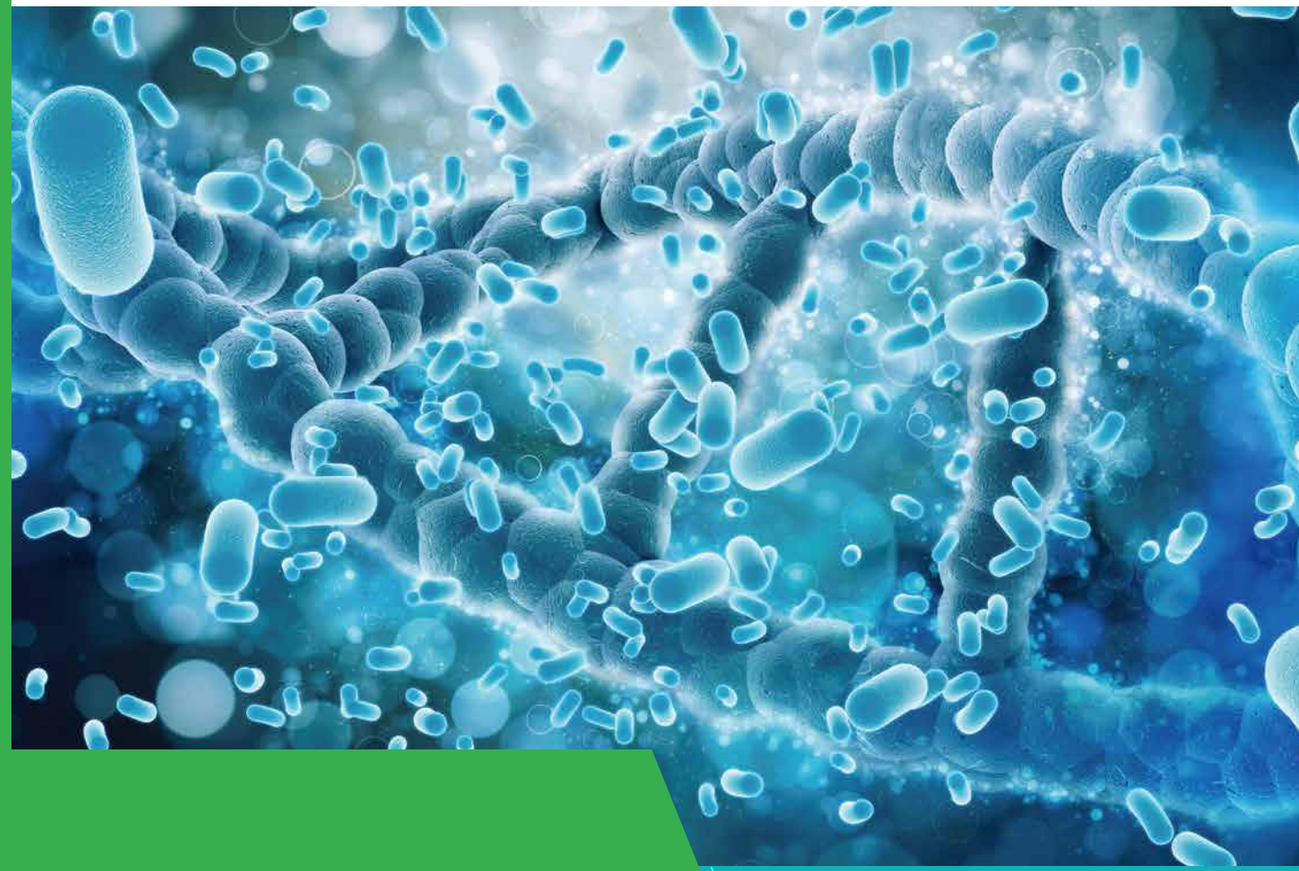
网址: www.wzbio.com.cn

技术交流QQ群: 290156365　企业客服QQ: 4000772566

邮箱: service@wzbio.cn

维真生物
WZ Biosciences Inc.

WWW.WZBIO.COM.CN



腺病毒
Adenovirus

Technical Manual
技术手册

分子克隆　腺病毒　腺相关病毒　慢病毒　细胞系建立　筛选检测

维真生物公司于 2012 年在中国济南创立，注册资金 1 亿元。维真生物公司定位于生物与健康产业，专注于腺病毒、慢病毒、腺相关病毒（AAV）病毒载体产业。

公司已拥有包含 18000 余个人源 ORF cDNA 克隆、1300 余个人源 miRNA 克隆的现货质粒库和包含 12000 余个人源 ORF 的腺病毒现货库；公司还提供分子克隆、基因敲减、基因敲除、基因突变等基因编辑服务，并在此基础上提供各类病毒包装服务。我们的客户遍及中国、美国、欧洲各国及各大院校、科研院所、医院及高科技生物企业。

在“让生命更健康，让世界更美好”伟大愿景的指引下，维真生物以帮助客户解决问题为目标，以专业的服务共创未来。

INTRODUCTION
维真生物

分子克隆　腺病毒　腺相关病毒　慢病毒　细胞系建立　筛选检测

目录

产品简介 ---------- 01
生产与检测 ---------- 03
案例分享 ---------- 09
运输 & 储存 ---------- 14
常见问题解答 ---------- 15
产品分类 ---------- 17
专题讨论 ---------- 19
部分客户代表性文章 ---------- 21
安全操作规范与免责声明 ---------- 23
维真产品与服务 ---------- 24

CONTENTS

Part - 1

腺病毒
产品简介

腺病毒(Adenovirus，Ad)是一种无包膜的线状双链DNA病毒，其复制不依赖于宿主细胞的分裂。腺病毒拥有50余种血清型，大多数腺病毒载体都是基于血清型2和血清型5，通过转基因的方式取代E1和E3基因，降低病毒的复制能力。这些重组病毒仅在高水平表达E1基因的细胞中复制，因此是一种适用于治疗的高效控制系统，重组腺病毒是进行基因转移和表达的工具，功能强大并易于操作。腺病毒独特的生物学特征使它成为“载体的首选”，被科研工作者广泛使用。

维真生物使用的是应用广泛的复制缺陷型的人类血清5型腺病毒，该腺病毒载体缺失E1和E3基因。E1基因在组装感染性病毒颗粒时必不可少，可在HEK293细胞中得到补充，而E3基因不影响病毒的包装。由于E1和E3基因的缺失，腺病毒载体可插入长达7.5kb的外源基因。

腺病毒作为工具载体的优势：

1. 腺病毒感染的宿主细胞范围广，包括分裂细胞和不分裂细胞（某些抗腺病毒感染的淋巴瘤细胞除外）。
2. 腺病毒感染效率高，在理想感染条件下，感染率可达 100%。
3. 腺病毒的病毒滴度经纯化、浓缩后可达 10^{12}-10^{13}vp/ml（即 10^{10}-10^{11}pfu/ml）。
4. 腺病毒易于扩增。
5. 不整合到染色体中，无插入致突变性。
6. 腺病毒理化性质稳定。

腺病毒作为工具载体的劣势：

1. 外源基因表达时间较短，不能持续表达；
2. 较强的免疫原性，容易引起机体的炎症反应和免疫反应。

Part - 2

腺病毒
生产与检测

第一步　转染

第二步　扩增、收毒步骤

第三步　大量扩增及收毒步骤

第四步　纯化前的处理

第五步　纯化与浓缩

第六步　病毒滴度检测

第七步　体外感染细胞

分子克隆　腺病毒　腺相关病毒　慢病毒　细胞系建立　筛选检测

重组腺病毒的制备流程示意图

重组腺病毒的制备

1.　细胞转染（以转染 6 孔板为例）

1) 250μl DMEM 和 9μl PEI 配成 Mix1，静置 5min 以上。
2) 250μl DMEM 和 1μg 穿梭质粒、2μg 包装质粒（即腺病毒骨架质粒），配成 Mix2。
3) 将 Mix1 和 Mix2 混合，涡旋振荡混匀，瞬离后，静置 30min 以上，以便有充足的时间形成 DNA-PEI 复合物。
4) 静置期间铺 6 孔板 HEK293 细胞，细胞数约 0.3-0.5×10^6 个 / 孔（也可提前铺板）。
5) 将静置后的混合液逐滴加入至 6 孔板细胞中。十字混匀后置于 CO_2 培养箱中培养。

2.　扩增、收毒步骤

1) 转染后约 14 天，将六孔板中有 CPE 的细胞连同培养基吹下加入至 10cm dish，混匀后置于 CO_2 培养箱中培养。
2) 收集有 CPE 的 10cm dish 细胞，用电动移液器转移至 15mL 离心管中，并做好相应的标记；
3) 3500rpm, 离心 7min；离心完成后，取出离心管，保留细胞沉淀，并将上清保存至其他离心管中备用。
4) 在细胞沉淀中加入腺病毒冻存液，用移液枪不断地吹打沉淀，保证完全回溶，吸到 1.5mL EP 管中。
5) -80°C及 37°C反复冻融四次。
6) 冻融完成后，12000g 离心 2min。
7) 将上清用 1mL 枪移到二维码管中，存放于 -80°C的冰箱中。

3. 大量扩增及收毒步骤

1) 将收集起来的病毒上清平均滴加到10个10cm dish中, 混匀后置于CO_2培养箱中培养, 2-3天后收毒；
2) 收集有CPE的10个10cm dish细胞，用电动移液器转移至50ml离心管中，并做好相应的标记；
3) 3500rpm,离心7min，分别收集上清和细胞沉淀；
4) 病毒上清加入PEG8000和NaCl，混匀后4℃直立放置过夜；细胞沉淀置于-80℃保存备用。

4. 纯化前的处理

1) 病毒上清处理

① 第二天将 4℃过夜的上清离心，3500g，4℃，离心 30min；
② 离心后弃掉上清，收集病毒沉淀；
③ 用 2mL 冻存液将病毒沉淀重悬，收集到 15ml 管中备用。

2) 细胞沉淀处理

① 细胞沉淀用 6mL 腺病毒冻存液重悬，混匀，反复冻融四次；
② 冻融完毕后，3500g，4℃，离心 30min，分别收集上清和沉淀（细胞碎片）；
③ 上清与重悬后的病毒沉淀混合；细胞碎片用 2mL 冻存液进行重悬；

3) 超声破碎细胞

① 重悬后的细胞碎片超声波破碎 3-4 次，至液体不粘稠；
② 超声完毕后，将液体分装到 2 个 EP 管中，12000g，4℃离心 10min；
③ 离心完成后，与病毒上清和细胞沉淀处理后的样品混合。

5. 纯化与浓缩

1) 纯化——碘克沙醇密度梯度离心。

① 配制不同浓度的碘克沙醇；
② 取一个超离管，用电动移液器逐层、缓慢加入不同浓度的碘克沙醇；
③ 将处理好的病毒液加入到最上层；
④ 超速离心，48000rpm，2.5h。离心前应将对应的超离管配平，误差控制在 0.1g 以内。

2) 浓缩

① 离心完毕后，将超离管底用针头刺破，收集腺病毒所在层至 15mL 管中；
② 将收集的病毒液用冻存缓冲液稀释至体积 15mL，然后用 0.2μm 的滤膜过滤；
③ 将过滤后的液体置于一个 15mL 的超滤管中，3500g 离心 50min 进行浓缩，一般离心 2-3 次后达到预定体积；
④ 将超滤管中剩下的液体反复吹打后吸至病毒储存管中，标明名称和日期。
⑤ 将收集起来的病毒涡旋震荡混匀后离心，吸 10μL 病毒液进行滴度检测。

高滴度 1×10^{10}PFU/mL 以上

短周期 可2周发货

6. 病毒滴度检测

实时定量 PCR 法是一种简单的、高通量的测定病毒粗提裂解液和纯化病毒样本中腺病毒颗粒数量的方法。每个模板的 Ct 值与该模板起始拷贝数的对数存在线性关系，利用已知起始拷贝数的标准品可作出标准曲线，最后通过标准曲线对未知模板进行定量分析。

1) 去除游离 DNA 分子

先将病毒稀释 10 倍，以保证样品中游离的 DNA 充分降解：取 5μl 病毒至 45μl PBS 缓冲液中，充分混匀。按以下体系配制 Mixture：

组成成分	体积
超纯水（DNase & RNase Free）	4 μl
DNAaseI	1 μl
10×DNAaseI Buffer	1μl
病毒稀释液	4μl
Total	10μl

37℃ 孵育 30 min，95℃加热 5min 使 DNA 酶失活。

2) 去除病毒蛋白外壳

向上述体系中再加入 1μl 蛋白酶 K（5μg/μl）。37℃ 孵育 30 min；再加 30ul 超纯水稀释至 40ul（至此病毒原液稀释 100 倍），95℃加热 5 min 使蛋白酶 K 失活，然后 12000rpm，离心 2min，取上清进行 qPCR 检测。

3) qPCR

将步骤 2 得到的上清，取 5μl 进行 10 倍梯度稀释，即病毒原液稀释了 1000 倍。分别取 2μl 待测样品及标准品作为模板进行 qPCR 检测。
qPCR 反应体系如下：

组成成分	体积
2 × SYBR Green mix	10 μl
Primers (Forward & Reverse mixture)	0.8 μl
超纯水（DNase & RNase Free）	7.2μl
DNA	2μl
Total	20μl

qPCR 反应程序：

循环参数	
预变性 95℃	3min
95℃	5S
60℃	15S
72℃	15S+Plate Read
39 个循环	

4）数据分析

病毒颗粒数的计算：病毒颗粒数 (VP/mL) = 与标准品相对值 ×1000

重组腺病毒的使用

1. 腺病毒体外感染细胞

1）腺病毒感染目的细胞预实验

不同细胞系细胞表面的腺病毒受体数量不同 ,这就决定了不同细胞系所使用的 MOI 会有所不同。通常，易感染细胞系所使用的 MOI 范围为 10-100。但是，对于某些难感染的细胞系，MOI 可能需要高达 1000。对于大多数细胞系来说，理想 MOI 的范围很窄。我们建议您查阅文献或者在正式实验前，在目的细胞中用报告基因的腺病毒进行预实验摸理想 MOI。

为了节省病毒，推荐使用 96 孔板进行预实验。操作步骤如下：

① **第一天 细胞的准备**

将目的细胞接种于 96 孔板中，细胞融合率为 50% 较佳。为保证细胞生长良好，请保证细胞贴壁过夜。

② **第二天 病毒的稀释**

取出提前准备好的 96 孔板，用准备好的病毒稀释液替代旧培养液，注意保留未加入病毒的细胞孔作为对照组。

③ **第二至四天 观察荧光或检测**

腺病毒对细胞的感染较快，请在感染细胞后 12、24、36、48 小时分别观察细胞中荧光表达情况（如果您选择的产品不带有荧光标签，请在 48、72、96、120 小时分别收获细胞并通过 Western-Blot 或其他检测手段来检测基因表达）。

12000 余种腺病毒现货

20 余种载体可供选择

注意事项：感染前细胞的状态好坏对最终的感染效果高低影响很大，请务必保证加入病毒前，细胞处于良好的生长状态。

2）腺病毒感染目的细胞实验

进行腺病毒感染实验时可使用完全培养液（培养目的细胞用）稀释。培养液中的血清、双抗或其他营养因子不会影响腺病毒的感染效率。以 24 孔培养板为例，进行 HEK293 细胞的感染实验操作步骤如下：

注意事项：实验前请按照不同的 MOI 设置不同的感染孔，并根据 MOI 和细胞数量计算所需要的病毒量。

理想病毒用量的计算公式：病毒用量 pfu= 理想 MOI × 细胞数目 / 病毒滴度

例如，如果您目的细胞的理想 MOI=10，您需要感染 10^6 的细胞，那么您共计需要 10^7pfu 的病毒；如果病毒滴度为 1×10^{10} pfu/mL，那么您实验需要的病毒量就是 1μL。

① **第一天 细胞的准备**

在 24 孔培养板接种若干孔，每个孔内接种 3-5×10^4 个 HEK 293 细胞，铺板时细胞的融合率为 50% 左右，每孔培养液体积为 300μL（进行病毒感染时细胞的汇合度约为 70%）。

② **第二天 病毒的准备**

根据实验的实际情况和 MOI 值，用培养液准确稀释腺病毒原液。注意事项：可使用 PBS 缓冲液或无血清培养液稀释病毒原液。

③ **第二天 感染目的细胞**

在目的细胞和对照细胞中分别加入计算好的病毒液，混匀后放于 CO_2 培养箱（37℃、5% CO_2）孵育过夜。

注意事项：

1）感染前细胞的状态好坏对感染效率影响很大，请务必保证加入病毒前，细胞处于良好的生长状态。

2）若病毒对目的细胞的感染效率较低，可通过提高 MOI 值提高病毒的感染效率，也可在培养液中加入维真生物的助感染试剂 ADV-HR 来提高病毒的感染效率。

④ **第三天 更换培养液**

病毒感染细胞 12 小时后，更换培养液。

注意事项：换液具体时间需视细胞状态而定。如果腺病毒对细胞有明显毒性作用，影响细胞生长状态，可于加病毒 4 小时后更换新鲜培养液。

⑤ **第三天 感染效率检测**

感染 24 小时后，可利用倒置荧光显微镜观察病毒感染目的细胞的效率。如选择的腺病毒载体不带有荧光标记，可以通过 Q-PCR（定量 PCR）检测目的基因的表达来评估感染效率。

Part - 3

腺病毒
案例分享

肌肉

种属：小鼠

病毒滴度：1×10^{10}PFU/mL

注射剂量：病毒原液 10μL

注射方法：皮下注射

取材时间：注射一周后取材拍照

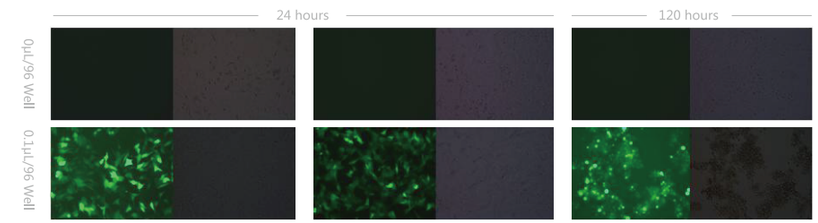
分子克隆　腺病毒　腺相关病毒　慢病毒　细胞系建立　筛选检测

注：部分为行业优秀案例分享，并未使用维真生物产品，在此仅供参考。

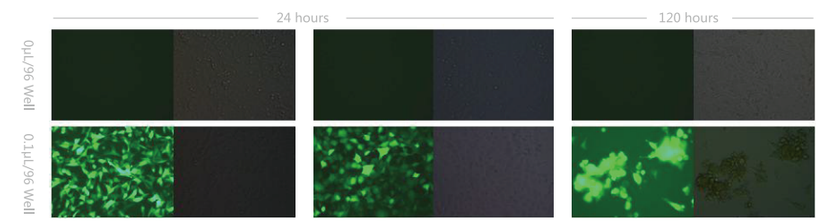
1. 维真生物腺病毒感染 HepG2、A549 和 Hela 细胞

因腺病毒种类、实验条件、细胞状态、实验人员熟练程度等的不同，以下 MOI 仅供参考。务必于实验前进行 MOI 摸索预实验。

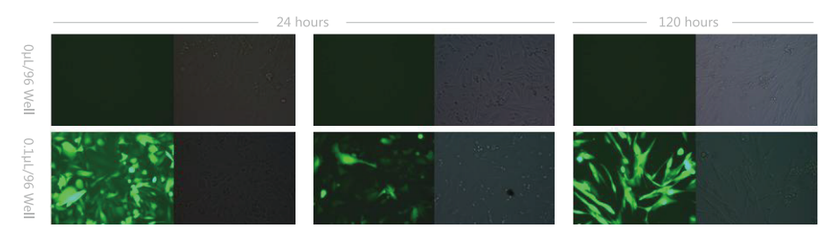
HepG2 [ADV-HR(1.5×10^{-2}mg/mL)]



A549 [ADV-HR(1.5×10^{-2}mg/mL)]



Hela [ADV-HR(1.5×10^{-2}mg/mL)]

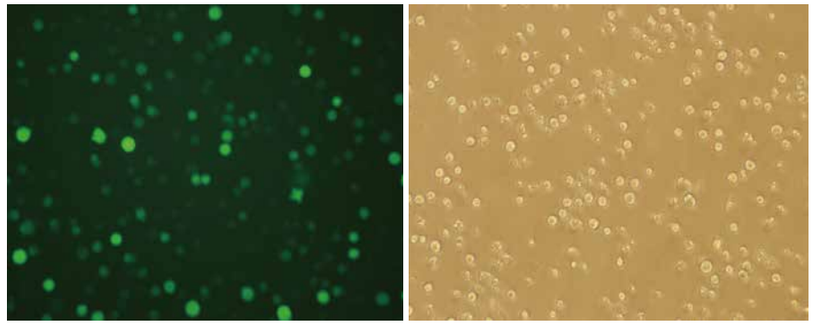


病毒滴度：3.7×10^{12}VP/mL　检测时间：感染后 24h 及 120h 拍照

注：0.1μL 病毒体积为梯度稀释后获得，并非使用移液器直接吸取。

实验规模	每孔维真生物腺病毒量（联合 ADV-HR 的使用时）	每孔培养基定量
96 孔板	0.1μL	100μL
48 孔板	0.4μL	200μL
24 孔板	1μL	500μL
6 孔板	5μL	2mL

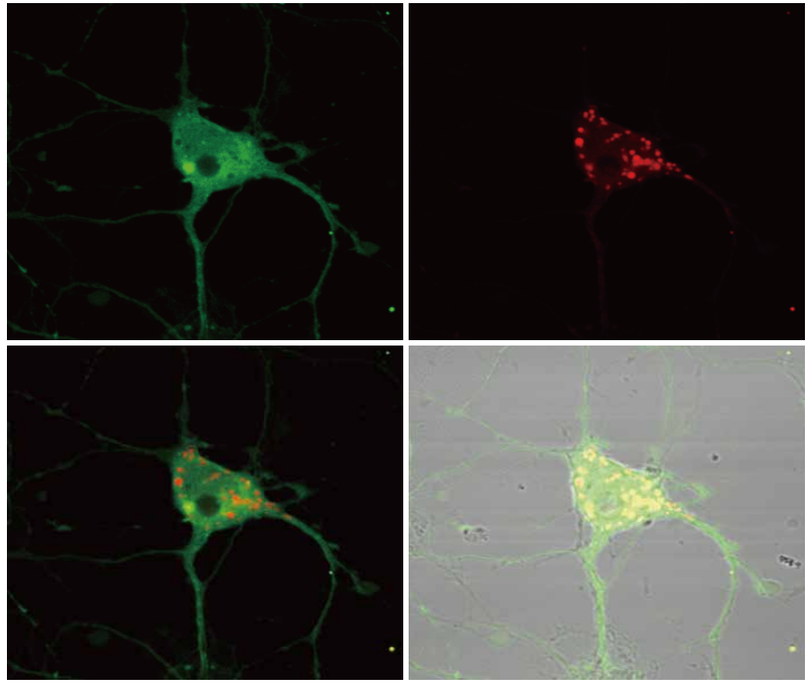
2. Ad5/F35 GFP 腺病毒感染 jurkat 细胞



滴度：1×10^{10}pfu/mL　　目的细胞：jurkat 细胞（急性 T 细胞白血病细胞系）

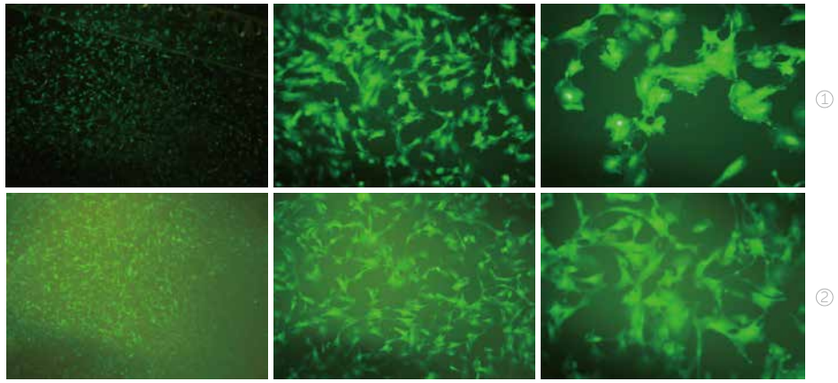
病毒量：5μL（24 孔板）　　检测时间：感染后 48h

3. 自噬双标腺病毒体外感染神经元细胞



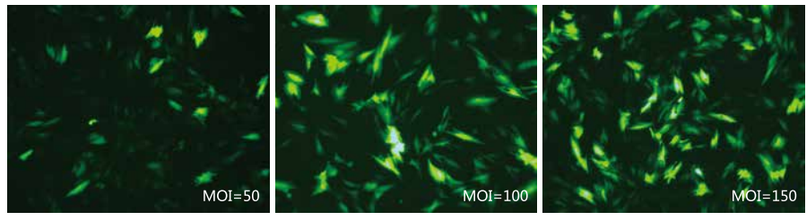
病毒滴度：1×10^{10}pfu/mL　　检测时间：感染后 48h 拍摄　　病毒量：6μL

4. GFP 腺病毒感染牛脂肪细胞



病毒滴度：1×10^{10}pfu/mL　　①: 稀释 10 倍；②: 稀释 100 倍

5. GFP 腺病毒感染人牙周膜干细胞



滴度：1.0×10^{10}vp/mL 以上　　目的细胞：人牙周膜干细胞　　检测时间：感染后 84h

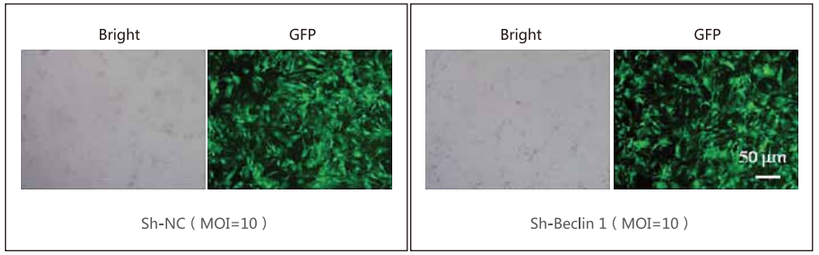
维真生物 WZ Biosciences Inc

2 周起 发货，质量保证

20余种载体可供选择　12000余种腺病毒现货

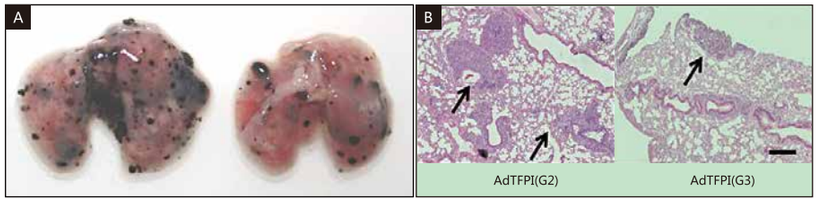
滴度高达1.0×10^{10}PFU/mL

6. 腺病毒体外感染心脏心肌细胞



拍摄时间：感染后 24h　　MOI：10　　感染细胞：新生小鼠心肌细胞 NRCs

7. 腺病毒感染小鼠肺脏

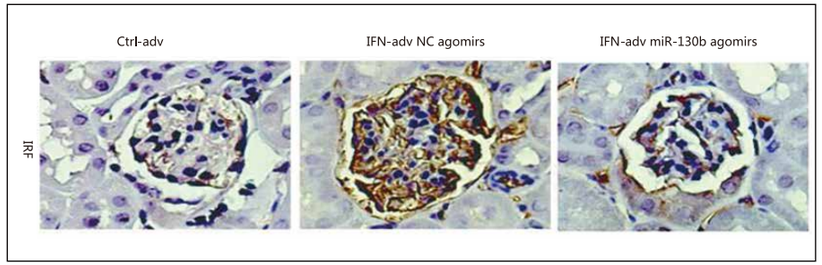


注射方式：尾静脉注射小鼠 16 天　　注射量：1.0×10^9PFU/ 只

A. 肺转移病灶　　B. 肺组织 HE 染色

《Endothelial Cell-Anchored Tissue Factor Pathway Inhibitor Regulates Tumor Metastasis to the Lung in Mice》2015

8. 腺病毒感染小鼠肾脏



注射方式：静脉注射　　注射量：1×10^9pfu　　检测部位：小鼠肾组织

《MiR-130b ameliorates murine lupus nephritis through targeting type I interferon pathway on resident renal cells.》2016

400-077-2566 / www.wzbio.com.cn / service@wzbio.cn

Part - 4

腺病毒

运输 & 储存

为保证病毒活性，维真生物病毒产品均通过干冰快递运输，请于收到产品后，第一时间在 BL2 生物安全柜中根据实验所需量将病毒进行分装。分装时请将病毒始终放置在冰上，分装的病毒可在 4℃保存 3 天，其余病毒请于液氮或 -80℃冰箱冻存。请避免反复冻融，否则会影响病毒滴度。在未反复冻融情况下，-80 ℃可以有效保存 6 个月，超出该储存时间则需重新进行质控鉴定。

Part - 5

腺病毒
常见问题解答

1. 外源基因需要瞬时表达还是稳定的基因表达？
2. 需转染分裂细胞还是非分裂的细胞？
3. 靶细胞的潜在免疫原性如何？
4. 病毒用来进行体内还是体外基因传递？

1）从维真生物购买的人类 ORF 开放阅读框克隆的序列与参考序列完全一致吗？

克隆序列并不总是与 RefSeq 的公布的序列完全一致。维真生物的大部分人类 ORF 克隆的序列与 NCBI 公布的参考序列完全匹配，但部分克隆的序列含有 SNP 单核苷酸多态性，存在短序列的插入或缺失。维真生物的人类 ORF 的亚克隆模板来自哺乳动物 MGC 库或 cDNA 文库，序列的差别反映了来自不同组织和不同个体的差异。

2）维真生物所有的人类 ORF 克隆都已全长测序验证了吗？

是的。维真生物所有的人类 ORF 克隆都已通过全长序列测序。每个克隆首先用 Sanger 法对两端序列进行测序验证，然后通过 NextGene 二代测序方法对全长序列测序。每个克隆的测序结果已在我们的官方网站 www.wzbio.com.cn 上公布。维真生物克隆的序列与参考序列之间的差异也可在网站上查阅。提交您的订单前，我们强烈建议您下载我们的序列并比对差异。

3）在什么情况下可以选用腺病毒载体作为将外源基因导入细胞的工具？

腺病毒载体能感染分裂和非分裂细胞。它适用于体内和体外基因传递，转染效率高，对外源基因瞬时表达量高。但相对于其他病毒载体系统，腺病毒载体在靶细胞中具有相对较高的免疫原性。当有以下实验要求时，可以考虑使用腺病毒替代慢病毒：

① 需缩短实验周期

慢病毒感染效率约 70% 左右，不能直接进行后续实验，需筛选稳定细胞株，而筛选时间至少为两周。而腺病毒感染效率高，在很多细胞株中的效率可以达到 99%，可直接进行后续实验，节约经济成本和时间成本。

② 需进行动物实验

用于动物实验的病毒需具有较高的滴度，才能达到使用更小体积注射的目的。目前，慢病毒能达到的较高有效滴度通常在 10^8TU/mL 左右，如选用慢病毒，约需 1mL 病毒注射体积。大体积的液体量对于动物是有害的，尤其是注射脑部。腺病毒的滴度可达 10^{11}PFU/mL，应用于动物实验时，每只小鼠只需要 1μL，而每只大鼠 10μL 即可。不仅如此，腺病毒可进行扩增纯化，从而避免重新包装，以节约经济成本和时间成本。

请参阅下面的表格，选择适合您的病毒载体。

病毒表达系统	腺病毒	腺相关病毒	慢病毒
病毒基因组	dsDNA	ssDNA	ssRNA
病毒外壳	无	无	具有包膜蛋白
基因组大小	38-39kb	5kb	9kb
包装容量	7.5kb	4.5kb	6kb
感染的细胞类型	分裂细胞和非分裂细胞	分裂细胞和非分裂细胞	分裂细胞和非分裂细胞
整合至宿主基因组	非整合	非整合	整合
表达丰度	高水平表达	高水平表达	中到高水平表达
表达时间	快(1-2 天)	1-2 周(体内)	慢(2-4 天)
外源基因持续表达时间	短暂	潜在的持久	长久
免疫反应	较高	极低	低
相对病毒滴度	10E10pfu/mL	10E13VG/mL	10E8TU/mL
生物安全等级	BSL-2	BSL-1	BSL-2

Part - 6

腺病毒
产品分类

维真生物可为客户提供定制过表达和干扰的腺病毒，此外，更有12000余种人源预制ORF腺病毒、各种工具病毒供您选择。

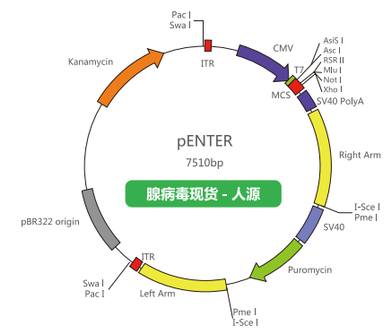
腺病毒过表达服务

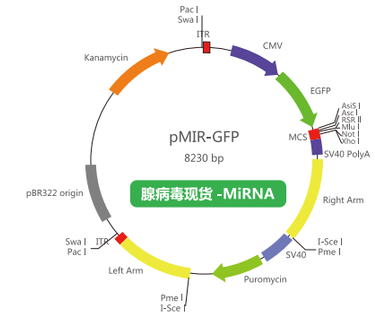
腺病毒干扰服务

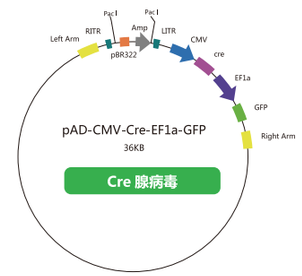
现货腺病毒

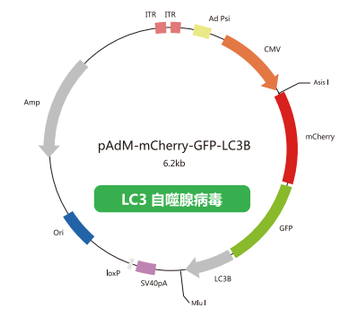
- 人源ORF
- 自噬单双标
- Cre

现货服务

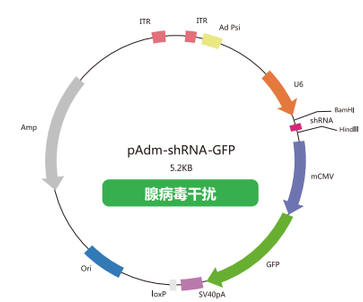


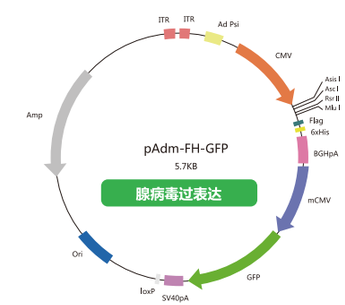






定制服务





- **发货快：**12000余种现货，快速发货
- **滴度高：**1.0×10^{12}VP/mL以上
- **纯度高：**病毒纯化，可用于体内实验

Part - 7

腺病毒
专题讨论

1. 质粒转染六孔板细胞后，迟迟不出CPE怎么办?

转染一周不出CPE的细胞需要进行换液，必要时重新进行酶切转染。

2. 腺病毒第一次扩增纯化滴度不够怎么办？

重新进行扩增纯化，加大原始病毒的用量和扩增盘数，从而提高病毒滴度。

3. 原始病毒有细菌或支原体污染怎么办？

对于原始病毒有细菌污染的我们需要先将病毒过滤处理污染后再进行扩增；有支原体污染的需要加入支原体去除剂去除支原体后再使用。

1）如何确定病毒感染细胞的理想 MOI 值？

由于病毒用量过少会无法达到理想的感染效率，病毒用量过多会造成细胞毒性。建议感染目的细胞前，根据维真生物为您提供的“腺病毒感染目的细胞预实验”来确定理想腺病毒用量。

2）如何确定目的细胞是否可被腺病毒感染？

建议使用前查询相关文献。通常腺病毒可以感染哺乳动物细胞系或原代细胞，包括可分裂和不可分裂的细胞。只有少数细胞系不能被感染，例如一些淋巴细胞系。为确保目的细胞可被腺病毒感染，建议使用有荧光标记的腺病毒对目的细胞进行预实验（详见“腺病毒感染目的细胞预实验”）。

3）腺病毒需要纯化吗？

如果病毒被用于体外细胞实验，不需要进行纯化。由于未纯化病毒液中含有的细胞碎片和少量培养基成分易诱导显著的免疫学反应，用于体内实验或动物实验的病毒需进行纯化，从而除去有缺陷的病毒颗粒和其他培养基中的成分。

4）什么是 RCAs ？如何检测 RCAs?

HEK293 细胞中存在与血清 5 型腺病毒相同的序列，重组腺病毒与 293 细胞的重叠序列交叉重组，可产生复制能力的腺病毒（Replication Competent Adenoviruses：RCAs），RCAs 发生的几率较小。

RCA 可使用非辅助细胞，如 HeLa 进行检测。将梯度稀释的病毒液感染 HeLa 细胞，并培养 8 天。8 天后，若没有空斑产生，重组的腺病毒则不是有复制能力的腺病毒。

5）怎样提高腺病毒的感染效率？

细胞良好的生长状态和感染时适合的 MOI 值是达到高感染效率的保证，而且腺病毒是通过细胞的表面受体 CAR 和细胞接触后，侵染细胞的。所以如果目的细胞的 CAR 受体少，病毒的感染效率就会低。一般情况下，可以通过提高感染时的 MOI 值来提高病毒的感染效率，必要时可在感染时加入助感染试剂 ADV-HR 来提高腺病毒的感染效率。

6）助感染试剂 ADV-HR 的使用浓度和使用方法是什么？

助感染试剂 ADV-HR 能够显著提高腺病毒的感染效率。但较高浓度的 ADV-HR 具有细胞毒性，影响细胞状态和感染效率。我们建议您务必于目的细胞中进行 ADV-HR 浓度梯度预实验。我们在 HEK293 中的实验表明，当 ADV-HR 使用浓度小于等于 1.0×10^{-2}mg/mL 时，细胞状态良好。

此外，对于较难感染的细胞系（如 CNE2）建议使用“孵育法”，即将助感染试剂、腺病毒和一定数量的细胞悬液加至 1.5mL Eppendorf 管中，轻轻混匀，置于 37℃培养箱中孵育 0.5 至 1 小时后转至培养皿中培养；对于较易感染的细胞系（如 HepG2）建议使用“直接加入法”，即在感染时，直接将助感染试剂、腺病毒滴加至培养皿中。建议您针对目的细胞的具体情况，选择合适的感染方法。

Part - 8

腺病毒

部分客户代表性文章

1. Theranostics. (IF=8.579) . (2021) .Wei Xiong et al. Relieving lipid accumulation through UCP1 suppresses the progression of acute kidney injury by promoting the AMPK/ULK1/autophagy pathway. [基因过表达 肾损伤]
2. J Cell Physiol. (IF=5.546) . Wang M, et al. (2021) . Lack of Mof reduces acute liver injury by enhancingtranscriptional activation of Igf1. [过表达/干扰 急性肝损伤]
3. Front Cell Dev Biol. (IF=5.201) . Gu J, et al. (2021) . CFTR Deficiency Affects Glucose Homeostasis via Regulating GLUT4 Plasma Membrane Transportation. [过表达 成肌细胞]
4. Oxid Med Cell Longev. (IF=5.076) . Gao Y, et al. (2021) .Rap1GAP Mediates Angiotensin II-Induced Cardiomyocyte Hypertrophy by Inhibiting Autophagy and Increasing Oxidative Stress. [过表达 心肌]

5. Front Immunol. (IF=5.085) . Wu L, et al. (2021) . EZH2 Inhibition Interferes With the Activation of Type I Interferon Signaling Pathway and Ameliorates Lupus Nephritis in NZB/NZW F1 Mice. [过表达 狼疮肾炎]
6. J Cell Mol Med. (IF=4.486) . Lei W , et al. (2021) . MARCH5 restores endothelial cell function against ischaemic/hypoxia injury via Akt/eNOS pathway. [过表达 心肌]
7. J Biol Chem. (IF=4.238) . Zhang Z , et al. (2021) . The adaptor protein GIPC1 stabilizes the scavenger receptor SR-B1 and increases its cholesterol uptake. [过表达/干扰 肝脏]
8. J Anim Sci Biotechnol. (IF=4.167) . Liu J, et al. (2021) . Comprehensive evaluation of the metabolic effects of porcine CRTC3 overexpression on subcutaneous adipocytes with metabolomic and transcriptomic analyses. [过表达 脂肪细胞]
9. Aging. (IF=4.831) .Chen Y , et al. (2020) Mitophagy impairment is involved in sevoflurane-induced cognitive dysfunction in aged rats[自噬双标 术后认知功能障碍].
10. Int. J. Mol. Sci. (IF=4.556). Xu, et al. (2020). Effective MSTN Gene Knockout by AdV-Delivered CRISPR/-Cas9 in Postnatal Chick Leg Muscle. [基因编辑 鸡胚成纤维细胞DF-1 MOI=1000 & 鸡肌肉注射 鸡骨骼肌的生长和发育]
11. Journal of Cellular and Molecular Medicine. (IF=4.486). Wang, et al. (2020). Inhibition of PFKFB3 suppresses osteoclastogenesis and prevents ovariectomy-induced bone loss. [基因沉默 骨髓源性巨噬细胞BMMs MOI=50 破骨细胞相关疾病]
12. Biol Psychiatry. (IF=12.095). Zhao D, et al. (2019). RPS23RG1 Is Required for Synaptic Integrity and Rescues Alzheimer's Disease-Associated Cognitive Deficits. [ORF现货腺病毒 阿尔兹海默症]
13. J Clin Endocrinol Metab. (IF=5.399). Li M, et al. (2019). The HMGA2-IMP2 Pathway Promotes Granulosa Cell Proliferation in Polycystic Ovary Syndrome. [ORF现货腺病毒 多囊卵巢综合征]
14. Stem Cells Int. (IF=3.869). Li X, et al. (2019). MicroRNA-150 Modulates Adipogenic Differentiation of Adipose-Derived Stem Cells by Targeting Notch3. [MicroRNA现货腺病毒 脂肪源性干细胞]
15. Elife Tool. (IF=7.08). Wu L, et al. (2019). PARIS, an optogenetic method for functionally mapping gap junctions. [基因过表达 缝隙连接探针]
16. Cell Death Dis. (IF=6.304). Su Y, et al. (2019). MicroRNA-181a-5p and microRNA-181a-3p cooperatively restrict vascular inflammation and atherosclerosis. [基因过表达 动脉粥样硬化]
17. EBioMedicine. (IF=5.736). Wang K, et al. (2019). TGF-beta1/p65/MAT2A pathway regulates liver fibrogenesis via intracellular SAM. [基因过表达 肝纤维化]
18. Arthritis Res Ther. (IF=4.103). Zeng J, et al. (2019). Interferon-alpha exacerbates neuropsychiatric phenotypes in lupus-prone mice. [基因过表达 Adv-IFN-α & Adv-ctrl系统性红斑狼疮]
19. EBioMedicine. (IF=5.736. Li, et al. (2019). Inhibition of AZIN2-sv induces neovascularization and improves prognosis after myocardial infarction by blocking ubiquitin-dependent talin1 degradation and activating the Akt pathway. [基因沉默 人脐静脉内皮细胞HUVECs MOI=100 新血管形成]

……

Part - 9

安全操作规范
与免责声明

1. 使用腺病毒载体前请向您所在机构的生物安全部门征得许可和指令。
2. 请在 BL2 生物安全二级生物安全柜中操作病毒。
3. 操作病毒和转染细胞时，请务必穿着实验服，佩戴口罩和手套。
4. 请小心操作，避免产生气雾或飞溅。被病毒污染的超净工作台，请立即用 70% 乙醇加 1% SDS 溶液擦拭干净。接触病毒的枪头、离心管、培养板、培养液请使用新鲜配制的 1% 次氯酸钠溶液进行消毒操作后丢弃。
5. 用显微镜观察细胞感染情况时，请先拧紧培养瓶或盖紧培养板，用 70% 乙醇擦拭培养瓶外壁后，显微镜下观察拍照。观察完毕，请用 70% 乙醇再次擦拭显微镜实验台。
6. 离心病毒时，应使用密封性好的离心管，或用封口膜封口后进行离心，请尽量使用组织培养室内的离心机。
7. 实验完毕脱掉手套后，请立即用肥皂和水清洗双手。
8. 维真生物保证您收到的产品符合产品目录上的规格。
9. 维真生物不提供其他任何形式的对于产品商业或健康用途的保证。
10. 维真生物不对任何由于使用或不正确使用本公司产品造成的直接、间接的、衍生的或偶然的损害所产生的后果负责。

维真生物
产品与服务
PRODUCTS & SERVICES

分子克隆 腺病毒 腺相关病毒

慢病毒 细胞系建立 筛选检测