# 慢病毒包装

1. 文库的慢病毒包装

物品准备：无抗生素的DMEM全培、Gibico血清、文库质粒、辅助质粒、拿0.2/0.5ml的EP管子**分装1个**（**1个16ug-32ul**、原管剩余69ug；）

文库质粒：浓度500ng/ul；文库质粒15ug需加30ul。

目前分装的psPax2 4.6ug/ul, pMD2.G 4.2ug/ul，所以 psPax2：9/4.6=**1.96ul**；pMD2.G：6/4.2=**1.43ul**

a）提前 24小时将HEK293T细胞接种于10cm培养皿中，每皿3x106细胞，置于 37℃、5%的CO2细胞培养箱中培养，待细胞汇合度70％-80％，准备转染；文库质粒解冻分装；

b）转染前30-60min/2h更换为新鲜的完全培养基(不含抗生素)。

c）配置转染混合液:

质粒mix体系：文库质粒(15ug)、辅助质粒psPax2(9μg)、pMD2.G(6μg)、700 ul 的 Opti-MEM 培养基（Opti-MEM 加到混合的质粒里）；

Lipo2000 mix 体系：lipo2000 转染试剂(30μl)、700 ul 的 Opti-MEM 培养基；

将上述液体轻柔混合均匀后在室温孵育20分钟后逐滴加入到培养基中。

d）转染4-6小时后，更换为10mL新鲜完全培养基。

e）收集病毒上清:分别于转染后48小时或72小时收集病毒上清于50mL 离心管中。收集上清并使用 0.45 μm 滤膜滤过，分装于ep管中，于-80℃冰箱保存。(注意:病毒使用前应该在冰上缓慢融化，切勿反复冻融)

**备注：**

血研所这边常用质粒配比：10cm - 700ul质粒mix- 700ul lipo2000mix；质粒15:9:6；lipo2000 30ul； 6cm则10cm的基础上除以2.5。