

注意事项

- 1、文库质检：进行CRISPR文库病毒包装之前，应对CRISPR文库质粒进行NGS质检，确保CRISPR文库的均一性和覆盖度符合要求。
- 2、质粒质量：请务必使用高纯度无内毒素转染级质粒，CRISPR文库质粒DNA A260/A280比值应在1.8左右。
- 3、包装细胞：为增加慢病毒包装产率，推荐使用LentiX-293T细胞作为CRISPR文库慢病毒包装细胞。细胞复苏并至少传代两次后再进行转染，请使用15代前的细胞包装CRISPR文库病毒。

常见问题及解决方法

常见问题	解决方案
慢病毒滴度低	1. 使用状态良好、不超过15代的LentiX-293T细胞。
	2. 使用高纯度和高浓度的CRISPR文库质粒。
	3. 使用超速离心等方法对病毒上清液进行浓缩以提高病毒滴度。
病毒液碎片较多	1. 使用0.45 μm滤膜将病毒液过滤后使用。
	2. 使用前可将解冻后的病毒液2000 rcf离心后取上清用。
病毒滴度不稳定	1. 病毒分装后使用液氮速冻并置于-80℃保存，于两年内使用。
	2. 每次实验请使用新解冻的病毒，请勿使用反复冻融的病毒液。
转染效率低	1. 部分细胞慢病毒较难感染，需增加病毒用量并优化转染条件。
	2. 制备转染复合物时请勿使用含血清的培养基。



Magic™ CRISPR文库慢病毒包装试剂盒
CRISPR Library Lentivirus Packaging Kit
(Cat. No.: VK102)

产品简介

本试剂盒使用针对CRISPR文库慢病毒包装进行特殊优化的转染试剂 Magic™ Library-Transfection，可将CRISPR文库质粒高效转染至LentiX-293T细胞，同时使用优化了包装质粒配比的Magic™ PackaginPlasmid Mix，极大地提高了CRISPR文库慢病毒的产量。本试剂盒的主要优势包括：（1）转染效率进一步提高，同时降低细胞毒性，更适用于CRISPR文库质粒的转染；（2）无需自行准备包装质粒，试剂盒提供经优化配比的包装质粒，简化实验条件，提高病毒包装效率。本试剂盒可显著提高CRISPR文库慢病毒的产量，同时减少病毒包装过程对CRISPR文库覆盖度和均一性的不利影响。

产品内容

产品组成	10 Preps	20 Preps
Magic™ Library-Transfection	600 μL	600 μL×2
Magic™ Packaging Plasmid Mix	200 μL	200 μL×2
Control GFP Plasmid	50 μL	50 μL×2

储存条件

请将试剂盒置于-20℃条件下长期保存，使用前4℃解冻；使用时各组分需充分融解、震荡混匀和离心；使用后可保存于4℃，请勿反复冻融。

包装设置

载体骨架	文库类型 ^a	预期滴度 ^b	推荐皿数 ^c	可感染次数 ^d
LentiGuide-Puro	亚库	10 ⁶ TU/mL	1	10
LentiGuide-Puro	全库	10 ⁶ TU/mL	2	5
LentiCRISPRv2	亚库	10 ⁵ TU/mL	2	4
LentiCRISPRv2	全库	10 ⁵ TU/mL	4	2

a：通常全库约包含10⁵ sgRNA，亚库约包含10⁴ sgRNA。

b：LentiCRISPRv2（约12kb）可按预期 10⁵ TU/mL来设置包装皿数，LentiGuide-Puro（约 8 kb）可按预期 10⁶ TU/mL来设置包装皿数，其他载体请根据载体大小计算包装皿数。

c：推荐使用15 cm培养皿进行病毒包装，病毒液初始体积为50 mL/皿，过滤后剩余约45 mL/皿。

d：可感染次数以工具细胞A549为例，其它细胞需根据测定的MOI和预期的文库覆盖乘数进行计算。

操作步骤（以15 cm培养皿为例）

1. 转染前 16-20 h将LentiX-293T细胞传至 15 cm 培养皿，使其在转染时细胞密度达到70-80%。
2. 在1.5 mL离心管中加入1 mL无血清DMEM，接着加入12 μg文库质粒和20 μL Magic™ Packaging Plasmid Mix 震荡混匀。**注：转染复合物形成的过程不能含有血清，该步骤请勿使用含血清的培养基。**
3. 再向离心管中加入 50 μL Magic™ Library-Transfection 震荡混匀，室温孵育 15-20 min，形成转染复合物。
4. 更换LentiX-293T细胞培养基为20 mL新鲜DMEM完全培养基，再将室温孵育后的转染复合物轻轻滴加至培养皿中，轻轻摇晃培养基，使转染复合物分散均匀。
5. 置于37℃，5% CO₂ 培养箱中培养 4 h后，去除含转染复合物的培养液，更换 20 mL 新鲜的DMEM完全培养基（此时记为时刻0），于 24 h 后（时刻24）补充 10 mL 新鲜的DMEM完全培养基，48 h 后（时刻48）收获第一批病毒上清液，于 4℃ 暂存。
6. 向培养皿中重新加入 20 mL 新鲜的完全培养基，继续培养 24 h后（时刻72）收获第二批病毒上清液，并将其与第一批收获的病毒上清液混合。
7. 将所有病毒上清液以2000 rcf离心 5 min，使用0.45 μm滤膜将离心后的病毒上清液进行过滤，将过滤后的病毒液进行分装，液氮速冻后于-80℃保存。**注：病毒液冻融对滴度影响较大，为保证准确、统一的实验条件，解冻后未使用的病毒液请勿再次使用。**