

Anti-CD20 (human) CAR lentivirus

产品信息

1. 产品介绍

本产品采用慢病毒三质粒包装系统，转染贴壁 293T 细胞制备而成，经过浓缩纯化，过滤除菌，可直接用于 CAR-T 细胞制备。经过多次感染实验验证，本产品可以有效感染分裂期和静止期 T 细胞，感染效果稳定可靠、重复性高；感染后 48 小时即可检测到 CAR 基因表达，且表达长期稳定。

2. CAR 基因

本产品的 CAR 基因结构包含：抗体 scFv 区、铰链区、跨膜区、共刺激区和激活区，属于二代 CAR 基因结构。所用的靶向人 CD20 抗体 scFv 为鼠源序列 Leu-16，其它结构均源自天然人源序列，具体结构如下图：



3. 制剂

本慢病毒重悬于 X-VIVO 15 (04-418Q) 培养基中，经 0.2μm 滤器除菌过滤，可直接用于细胞感染。

4. 效价

1 ml 慢病毒液建议感染 2.5×10^6 的 T 细胞；细胞量较大时，等比例增加慢病毒的量即可；为了获得最佳感染效果，请根据特定细胞数量进行优化。

5. 运输

干冰运输。

6. 存储

-80℃ 保存；避免反复冻融。

7. 应用

制备靶向人 CD20 CAR-T 细胞。

产品验证

1. 活性-FACS

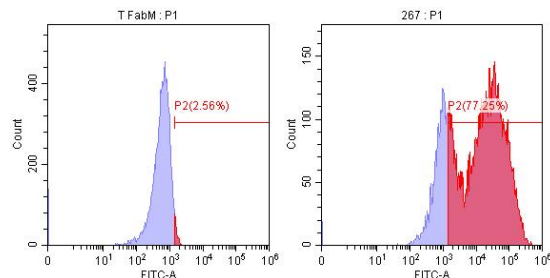


图1. 应用本产品制备的靶向人 CD20 CAR-T 细胞 CAR 表达水平约 75%。

分别取 2×10^5 的 T 细胞和靶向人 CD20 CAR-T 细胞，用 1μl

FITC-AffiniPure-F(ab')₂ Fragment Goat Anti-Mouse IgG 进行染色。

图左：T 细胞，图右：靶向人 CD20 CAR-T 细胞。

2. 活性-Cytotoxicity

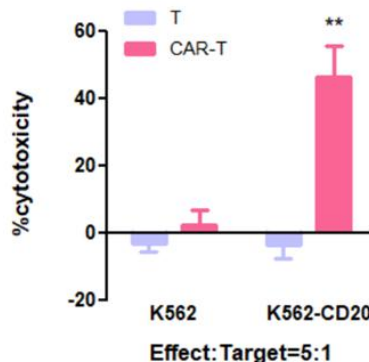


图2. 应用本产品制备的靶向人 CD20 CAR-T 细胞体外杀伤效果显著。对照 T 细胞和 CD20 CAR-T 细胞分别与靶细胞 (K562, K562-CD20) 共孵育，效应细胞与靶细胞的比例为 5: 1，用 LDH Cytotoxicity Assay Kit (货号: CA22018) 检测体外杀伤效果。

使用方法

1. 从血液样品中分离单个核细胞 (PBMC)，并激活 T 细胞。
2. T 细胞激活 48 小时后，取目标数量 T 细胞于 15ml 或 50ml 离心管中，300g 离心 5 分钟去除上清 (注：T 细胞激活第二至三天感染效率最佳)。
3. 病毒液解冻后，取适量病毒液重悬细胞沉淀，吹打混匀后，2000g 离心 90 分钟。
4. 离心结束后，小心去除上层病毒液，用新鲜的细胞培养基重悬沉淀，转入孔板培养 (注：感染后细胞状态略有下降，属正常情况，持续培养几天，即可缓解)。
5. 感染 48 小时后，取 2×10^5 个靶向人 CD20 CAR-T 细胞进行流式实验，检测 CAR 基因表达情况。

注意事项：请在二级生物安全柜中进行操作，实验人员应穿戴好实验服、口罩、手套、眼罩等。如不慎发生飞溅等情况，请立即用 70%乙醇喷洒病毒污染的地方。