

## 腺病毒沉默贴壁细胞

### 1. 细胞准备

- 1.1 消化计数后调整细胞密度
- 1.2 向细胞培养板加入细胞悬液
- 1.3 37°C, 5% CO<sub>2</sub>培养箱孵育, 感染时细胞汇合率达 30-50%

### 2. 病毒感染

- 2.1 病毒置于冰上缓慢溶解
- 2.2 弃去孔内原有培养基, 每孔加入1/2体积的新鲜完全培养基
- 2.3 加入计算体积的病毒液, 水平摇匀后置培养箱孵育
- 2.4 感染4小时后补液, 恢复至总体积

### 3. 换液

- 3.1 感染后 24±2小时弃去含病毒培养基
- 3.2 每孔加入总体积新鲜完全培养基

### 4. 效果评估

- 4.1 观察GFP阳性细胞分布及形态
- 4.2 初步评估感染效率

## 常见问题解析

### 1. 腺病毒如何稀释？

使用无血清培养基（常规细胞培养用）、生理盐水、Hanks液或PBS等溶液进行稀释。若原始病毒滴度为 $1 \times 10^{10}$  PFU/mL，取10  $\mu$ L病毒原液加入90  $\mu$ L稀释液（如无血清培养基）中，混匀后即可获得 $1 \times 10^9$  PFU/mL的病毒稀释液。

### 2. 如何确定向细胞中加入腺病毒的最佳时间？

推荐在细胞处于对数生长期且汇合度达到30-50%时加入腺病毒，此时细胞状态活跃，分裂旺盛，有利于病毒高效感染。腺病毒感染后，通常需要36-48 h才能观察到其携带基因（如报告基因GFP或目的基因）的明显表达。

### 3. 腺病毒感染细胞后多久基因表达到达峰值？

对于大多数类型的细胞，腺病毒感染后携带基因的表达通常在36-48 h左右达到峰值。但对于生长缓慢的细胞，达到表达峰值所需的时间会显著延长。

## 参考文献

- [1] Soria C, Estermann FE, Espantman KC, et al. Heterochromatin silencing of p53 target genes by a small viral protein [J]. Nature, 2010, 466(7310): 1076-1081