**Producción de lentivirus**

Dia -1

1. Sembrar 6 x 106 de células HEK293 T17 en 10 mL de DMEM completo (10% FCS, Abs) en una placa de Petri de 10 cm.

Día 0

1. Revisar el estado de las células. Deben verse sanas, a una confluencia de ~70%.
2. Quitar el DMEM y substituir con 7 mL de Opti-MEM I a 37° C.
3. Preparar la mezcla de plásmidos y lipofectamina:
   1. 200 L de Opti-MEM I + 30 L de lipofectamina.
   2. 200 L de Opti-MEM I + 10 g del plásmido de expresión + 3.5 g de pMD2.G (#12259) + 6.5 g de psPAX2 (#12260).
   3. Agregar la mezcla de plásmidos al tubo con lipofectamina.
   4. Incubar 30 min RT.
4. Agregar gota a gota los 400 L de la mezcla a las células.

Día 1

Quitar el Opti-MEM y substituir con 7 mL de DMEM completo a 37° C.

Día 2

Colectar el medio y agregar 7 mL de DMEM completo a 37° C. Guardar el medio con virus a 4° C.

Día 3

Colectar el medio con virus.

Mezclar los medios colectados los días 2 y 3 con PEG

Agitar toda la noche a 4° C y seguir el protocolo de concentración de virus.