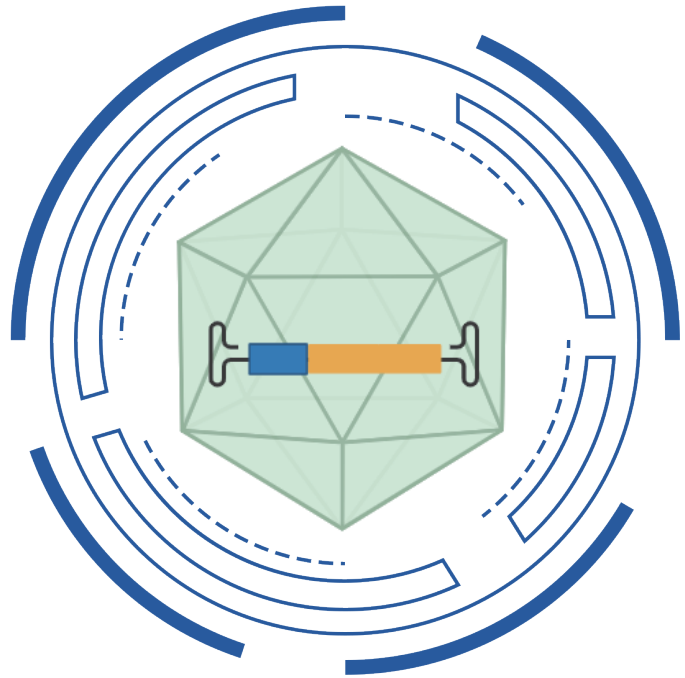


复百澳生物
AAV5-Luciferase
假病毒产品说明书



| 产品名称

通用名称: Adeno-associated virus5-Luciferase

| 产品规格

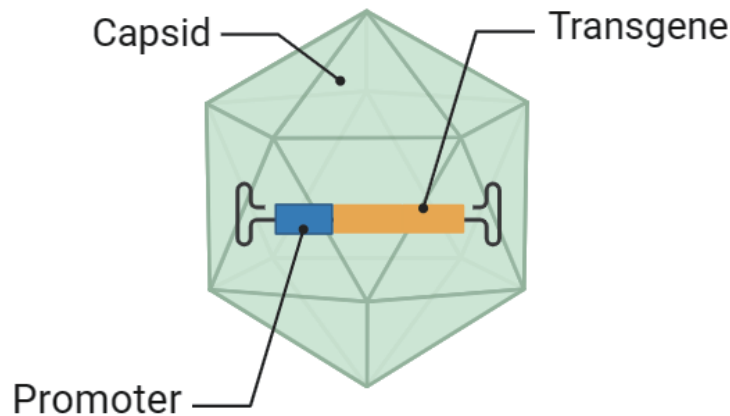
货号: AF5-FV319

规格: 1支/盒, 1ml/支

| 产品概述

本产品是以腺相关病毒2型 (AAV-2) 为骨架, 根据靶向需求替换不同血清型衣壳蛋白, 两者结合产生的嵌合病毒。该假病毒结构仅具有单轮感染能力, 可模拟野生病毒进入细胞后与抗体中和的过程, 同时该假病毒包含荧光素酶 (Luciferase) 报告基因核酸序列, 方便对后续中和实验数据整理分析。本产品血清型为5型, 生物安全性等级低, 安全性好, 操作简单。

| 产品结构示意图



| 预期用途

- 1、抗AAV病毒血清中和抗体效价测试;
- 2、抗AAV病毒单克隆抗体滴度检测。

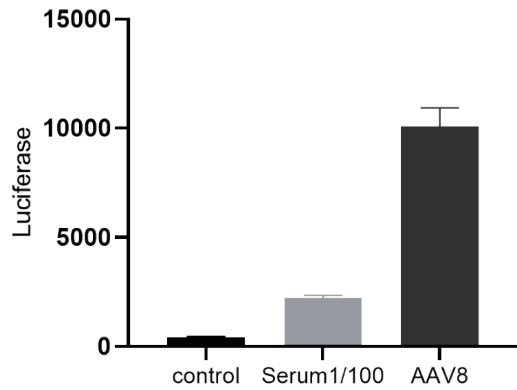
| 检测原理

中和抗体可由感染病原体或接种疫苗产生, 可以特异识别病毒表面的抗原位点, 阻止病毒入侵细胞繁殖, 保护机体免受其害, 具有真正的抗病毒作用。

该AAV假病毒含有病毒的中和抗原, 且具有单轮感染细胞的能力。有中和活性的样品在与假病毒作用后, 会发生中和反应, 降低AAV病毒感染能力, 导致携带的报告基因Luciferase表达量减弱。

通过多功能酶标仪读取每孔的荧光素酶表达量, 将待测样品孔的数值与假病毒对照组的数值进行比较, 可判断样品是否具有中和活性, 并计算出样品的有效作用浓度。计算50%假病毒被抑制时抗体的稀释倍数的倒数即中和抗体滴度。

产品感染活性检测示例



(以AAV8型为例, 感染293T细胞72 h后荧光素酶表达)

存储条件及有效期

置于-75±5°C条件下密封保存, 有效期12个月。

实验材料

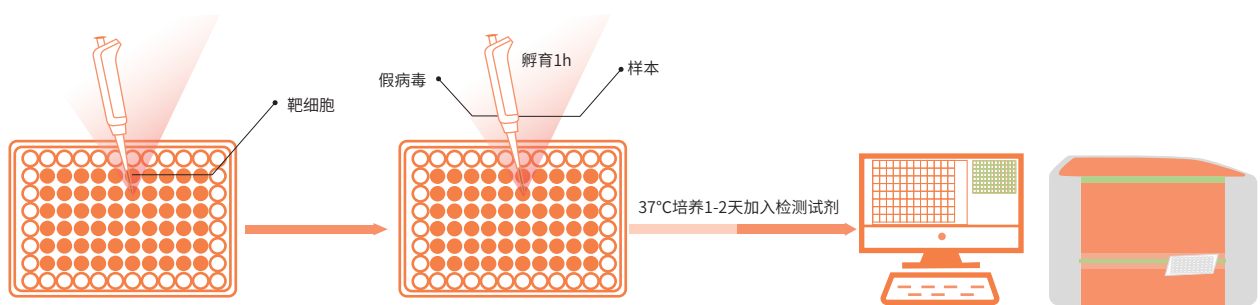
1、实验试剂

293T细胞、DMEM、胎牛血清、PBS、0.25%胰酶、血清或抗体、荧光素酶检测试剂盒。

2、实验设备

生物安全柜、荧光倒置显微镜、CO₂细胞培养箱、离心机、多功能酶标仪、Elispot读数仪、水浴锅、移液器(单道、多道)、电动移液器、96孔板、酶标板。

实验流程 (以血清样本为例)



AAV实验流程图

实验步骤 (以血清样本为例)

1、细胞铺板

取对数生长期的 293T 细胞进行胰酶消化, 计数后制成 1×10^5 cells/mL 细胞悬液, 96 孔板每孔接种 100 μ L 细胞液, 置于 37°C、5%CO₂ 细胞培养箱中继续培养;

2、血清样品准备

- 血清样品置于56°C水浴锅中加热30 min(建议加热, 去除补体干扰);
- 稀释: 使用DMEM培养基对血清样本分别进行系列梯度稀释, 作为独立血清样品进行中和抗体检测。

3、假病毒稀释

从-80°C超低温冰箱中取出病毒置于冰上或4°C条件下融化, 待其完全融化后短暂离心, 使病毒液聚集于保存管底, 依据报告中病毒滴度和实验方案设计进行系列稀释。

因病毒对不同来源的293T细胞感染效率不同, 建议正式实验前进行预实验, 以确定最适病毒量。

4、待测血清样品和病毒稀释液预孵育

将稀释的待测血清样品与病毒稀释液等体积混合, 同时设置**阴性对照(DMEM培养基)**、**阳性对照(病毒稀释液与DMEM培养基等体积混合)**, 放入37°C、5%CO₂培养箱中孵育1 h。

5、感染细胞

孵育结束后各取 100 μL 混合液(包括阴性、阳性对照)贴壁缓慢加入 96 孔细胞板对应孔中, 贴着工作台面轻轻划“十”字混匀, 放入 37°C、5%CO₂ 培养箱中培养 72 h。

6、感染检测

感染检测: 病毒感染细胞72 h后, 取出96孔板, 孔板室温放置30min以平衡至室温, 加入与待测细胞培养物等体积并平衡至室温的荧光素酶检测试剂, 如96孔培养板可吸取100μL检测试剂加入100μL待测细胞培养物中。室温放置3min使细胞充分裂解, 使用酶标仪检测其发光值, 注意在20 min内完成检测。(荧光素酶检测方法仅供参考, 客户可根据实际使用的荧光素酶检测试剂盒操作说明进行实验)。

7、结果判定

- 结果判断: 中和抗体检测实验过程中需设置假病毒阳性对照、细胞阴性对照, 来判定实验是否成立: 细胞样品组荧光素酶表达量与空细胞组的数值相近, 无明显差异, 则实验成立;
- 抑制率=1- $\frac{(\text{样品组检测值均值}-\text{阴性对照组检测值均值})}{(\text{阳性对照组检测值均值}-\text{阴性对照组检测值均值})}$ ×100%, 中和抗体滴度被表示为抑制率为50%时对应的血清稀释度的倒数。

| 注意事项

- 因细胞水平检测受细胞类型、细胞培养状态、环境条件等影响较大, 客户需要根据自身条件确定细胞量、病毒加入量等关键实验参数; 建议提前进行预实验, 通过预实验计算出合适的病毒使用浓度;
- 本产品仅供AAV抗血清或中和抗体滴度体外检测;
- 病毒、待测血清样本避免反复冻融, 建议启用后依据实验需求分装储存;
- 血清梯度稀释时注意不要产生气泡;
- 所有实验操作过程均需要在生物安全柜内进行, 实验过程中产生的废弃物均需进行高压灭菌处理;
- 病毒为微量体积, 使用前请短暂离心后再取样进行操作。

专注基因递送，守护生命健康

We are dedicated to gene delivery, to protect life-health



扫码关注

下载产品说明书

联系我们

Add: 江苏省苏州工业园区星湖街218号B6-401C

Room 401C, Building B6, biobay park, 218 Xinghu Rd,
Suzhou Industrial Park, China

Tel: 400-8792-452 (技术热线)

Web: www.fubio.cn

Email: fubio@fubio.cn