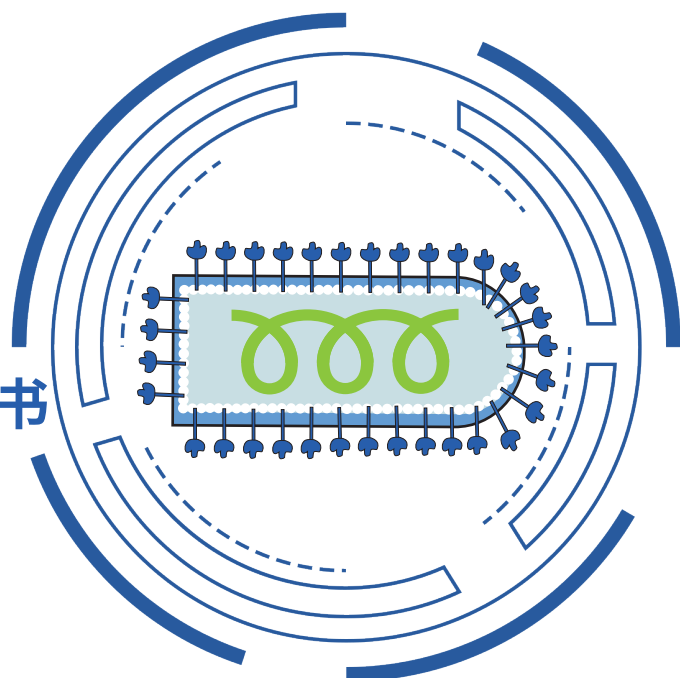


复百澳生物

Pseudovirus-RV-G产品说明书



产品名称

通用名称: Pseudovirus-CVS-11-zsGreen-Luciferase

产品规格

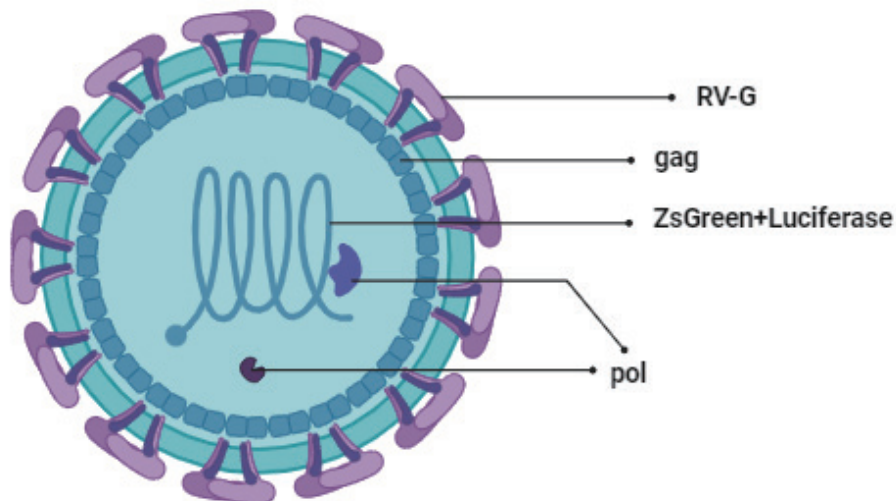
货号: FNV6537

规格: 5 支/盒, 200 μ L/支

产品介绍

本产品是以人类免疫缺陷病毒I型 (HIV-1) 为骨架, 表面镶嵌狂犬病病毒囊膜糖蛋白 (RV-G) 的病毒样颗粒 (Virus-like Particle, VLP)。该假病毒结构高度类似活病毒, 可模拟真病毒与受体结合并诱导膜融合进入细胞的过程, 具有单轮感染能力, 同时该假病毒包含绿色荧光蛋白 (zsGreen) 和荧光素酶 (Luciferase) 双报告基因核酸序列, 方便对后续结果进行评估。该产品生物安全性等级低, 安全性好, 操作简单。

产品结构示意图



预期用途

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

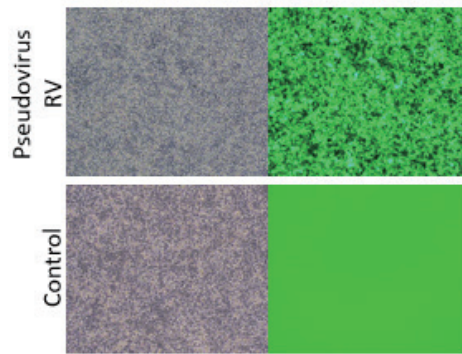
检测原理

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。

该狂犬病病毒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, 会丧失感染细胞的能力。

通过Elispot读数仪扫描计数每孔的荧光斑点数, 或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



(RV假病毒感染293T细胞72 h后荧光表达)

存储条件及有效期

置于 $-80\pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下密封保存,有效期12个月。

实验材料

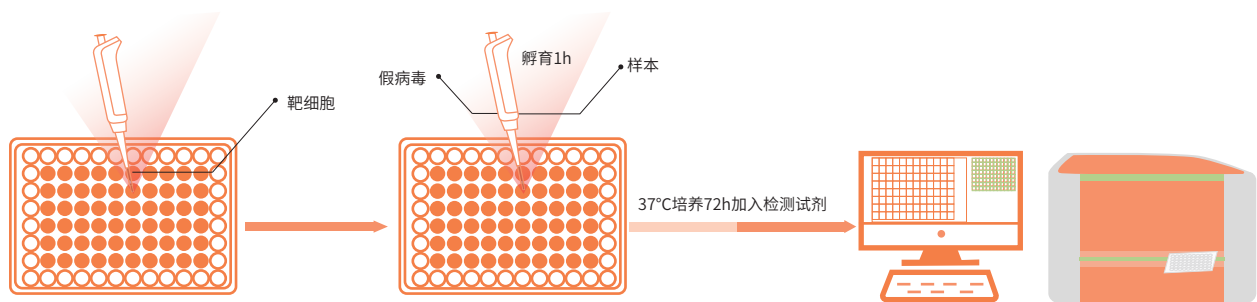
1、实验试剂

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、 CO_2 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)



狂犬病毒实验流程图

实验步骤 (以血清样本为例)

1、细胞铺板

取对数生长期的 BHK-21 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 $100 \mu\text{L}$ 细胞液,置于 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培养箱中继续培养。

2、血清样品准备

- a) 血清样品置于56°C水浴锅中灭活30 min-1h;
- b) 稀释: 使用DMEM培养基对血清样本稀释, 分别进行系列梯度稀释, 作为独立血清样品或单抗样品进行中和抗体检测。

3、假病毒稀释

从-80°C超低温冰箱中取出假病毒置于冰上或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, 依据报告中假病毒滴度和实验方案设计进行系列稀释(1TCID₅₀=1荧光斑点); 建议96孔板每孔加入4000 TCID₅₀假病毒液。

因假病毒对不同来源的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、待测样品和假病毒稀释液预孵育

将稀释的待测样品与假病毒稀释液进行等体积混合, 同时设置细胞对照(DMEM培养基, 100 μL/well)、假病毒对照(假病毒稀释液与DMEM培养基等体积混合), 放入37°C、5%CO₂培养箱中孵育1h。

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)贴壁缓慢加入已经接种好细胞的96孔板对应孔中, 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72h。

6、感染检测

病毒感染细胞72 h后, 取出96孔板置于荧光倒置显微镜下观察绿色荧光蛋白表达效率, 拍照记录;

检测方法一: 使用Elispot荧光斑点计数仪进行检测, 计算感染抑制率(%);

检测方法二: 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

1) 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。细胞对照无绿色荧光蛋白表达, 荧光素酶表达量与空细胞组的数值相近, 无明显差异, 如假病毒对照绿色荧光蛋白表达效率为30-50%, 则实验成立。

2) 抑制率= $1 - \frac{(\text{样品组检测值均值} - \text{细胞对照组检测值均值})}{(\text{假病毒对照组检测均值} - \text{细胞对照组检测值均值})} \times 100\%$, 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


- 1) 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假病毒使用浓度;
 - 2) 本产品仅供狂犬病病毒抗血清或中和抗体滴度体外检测;
 - 3) 假病毒、待测样本避免反复冻融, 建议启用后依据实验需求分装储存;
 - 4) 血清梯度稀释时注意不要产生气泡;
 - 5) 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;
- 假病毒为微量体积, 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

 **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