

产品手册

Rabies virus (Pasteur vaccins/PV)Pseudotyped Virus (GFP-Luciferase)

狂犬病病毒(Pasteur vaccins/PV)假病毒(GFP-Luciferase)

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

版本号：V1.0.4

目录

一、	产品基本信息及组分.....	3
二、	包装、运输及储存.....	3
三、	原理描述.....	3
四、	感染能力.....	3
五、	使用方法.....	4
六、	结果示例.....	6
七、	使用注意事项：	6
八、	相关产品.....	6

Genomeditech

一、产品基本信息及组分

基本信息

产品编号	产品名称
GM-0220PV136	Rabies virus (Pasteur vaccins/PV)Pseudotyped Virus (GFP-Luciferase) 狂犬病病毒(Pasteur vaccins/PV)假病毒(GFP-Luciferase)

组成成分

组分编号	产品名称	储存	编号/规格		
			GM-0220PV136-96T	GM-0220PV136-480T	GM-0220PV136-960T
GM-79103LV	Rabies virus (Pasteur vaccins/PV) Pseudotyped Virus (GFP-Luciferase)	-80℃	50 μL/管*1 管	50 μL/管*5 管	50 μL/管*10 管
GM-79103LV	Rabies virus (Pasteur vaccins/PV) Pseudotyped Virus (GFP-Luciferase)	-80℃	20 μL/管*1 管	20 μL/管*1 管	20 μL/管*1 管

二、包装、运输及储存

1. 假病毒产品干冰运输，-80℃储存。（保存时间以 12 个月以内为宜，如保存时间过长，使用前请重新检测病毒滴度）
2. 请收到产品立即确认产品是否为冻存状态，并立即存入-80℃冰箱。

三、原理描述

狂犬病病毒（RABV）通过 G 蛋白与细胞受体结合，诱导产生中和抗体。为避免传统的 RABV 病毒中和试验需要操作活毒而存在的生物安全隐患，吉满生物建立了基于 HIV 慢病毒为骨架，表面镶嵌狂犬病毒 G 蛋白（RABV-G; NCBI Reference Sequence: NC_001542.1）的假型病毒，可模拟真病毒与受体结合后进入受体细胞的过程。同时，该病毒携带 GFP 荧光和 Luciferase 荧光素酶报告基因，可通过观察荧光或检测荧光素酶活性评价假病毒感染细胞的活性，也可用于评价中和抗体阻断假病毒感染细胞的活性。该假病毒无自主复制能力，安全性高，是 RABV-G 受体药物筛选、中和抗体活性检测及疫苗效果评价的重要工具。

四、感染能力

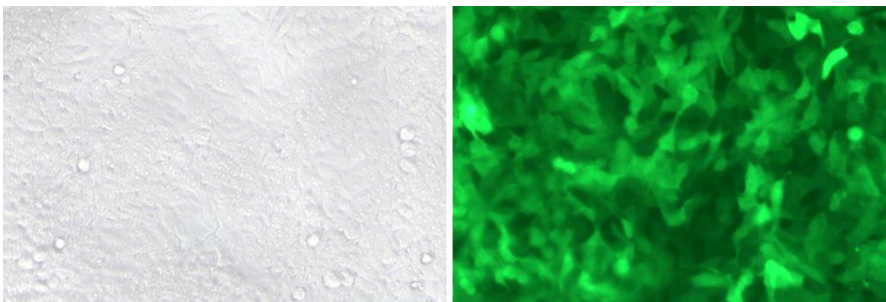


图 1 吉满狂犬假病毒感染 HEK-293T 的荧光图片

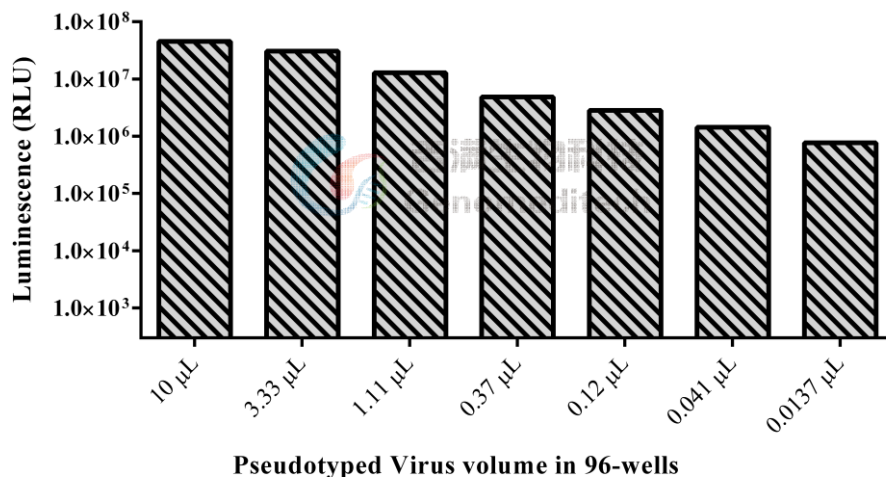


图2 吉满狂犬假病毒感染 HEK-293T 后测定 Luciferase 数值

五、 使用方法

以 GM-0220PV136 VF33028 批号假病毒为例，使用 HEK-293T 细胞，Anti-RABV-G (Cat. GM-78316AB/Genomeditech) 单抗进行中和抗体检测。(研究人员可使用 Certificate of Analysis 上标注的病毒推荐量直接进行正式实验，或使用本包装中的 20 μL 病毒小样进行 TCID₅₀ 测定实验或感染预实验，血清样品可直接 56°C 水浴灭活 1h 后使用)

1) 细胞准备:

在实验前 1-2h，将细胞从培养箱中取出，消化离心收集细胞沉淀，使用适量完全培养基重悬细胞，检测细胞活力并计数，再以完全培养基调整细胞密度 5×10^5 cells/mL。

2) 假病毒感染液稀释

配置 0.158 μL (约 50000 TCID₅₀) 假病毒稀释液：取 84.2 μL 完全培养基，加入 15.8 μL 病毒原液，混匀。

3) 抗体稀释和病毒感染

a) 先将 Anti-RABV-G 抗体稀释至 1 mg/mL，Conc.01 浓度终为 100 μg/mL，10 倍梯度稀释，抗体用 EP 管稀释后，按如下方法加入到 96 孔板中：

S1: 20 μL 1 mg/mL 抗体+180 μL 细胞，混匀后，取 100 μL 到 96 孔板 B1；

S2: 20 μL S1+180 μL 细胞，混匀后，取 100 μL 到 96 孔板 B2；

S3: 20 μL S2+180 μL 细胞，混匀后，取 100 μL 到 96 孔板 B3；

.....

S11: 20 μL S10+180 μL 细胞，混匀后，取 100 μL 到 96 孔板 B11；

S0: 直接加入 100 μL 细胞至 96 孔板 B12。

b) 然后吸取 1 μL/孔的假病毒稀释液分别加到上述 96 孔板中，然后置于培养箱中培养 (37°C, 5% CO₂)。

c) 孵育 24 h。

表. 抗体终浓度 96 孔板排布如下 (B12 为 0 浓度对照)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
B	Anti- RABV-G 100 μg/mL	10 μg/mL	1 μg/mL	100 ng/mL	10 ng/mL	1 ng/mL	100 pg/mL	10 pg/mL	1 pg/mL	100 fg/mL	10 fg/mL	0
C	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS	PBS
D												
E												
F												
G												
H												

注：周围孔加入 100 μL PBS，以防止孔板内液体蒸发

4) 荧光素酶检测：

感染假病毒 24 小时后，使用荧光素酶检测试剂盒(GMOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit ; Cat. GM-040503C/Genomeditech) ， 在 酶 标 仪 (Moleculardevices/SpectraMax L) 上检测发光值 (RLU) 。

5) 数据分析：

中和抑制率

$$\text{Inhibition(\%)} = \left(1 - \frac{\text{处理组 RLU} - \text{空白 RLU}}{\text{SO RLU} - \text{空白 RLU}} \right) \times 100\%$$

GraphPad Prism 6.0 计算 50%中和剂量。

六、 结果示例

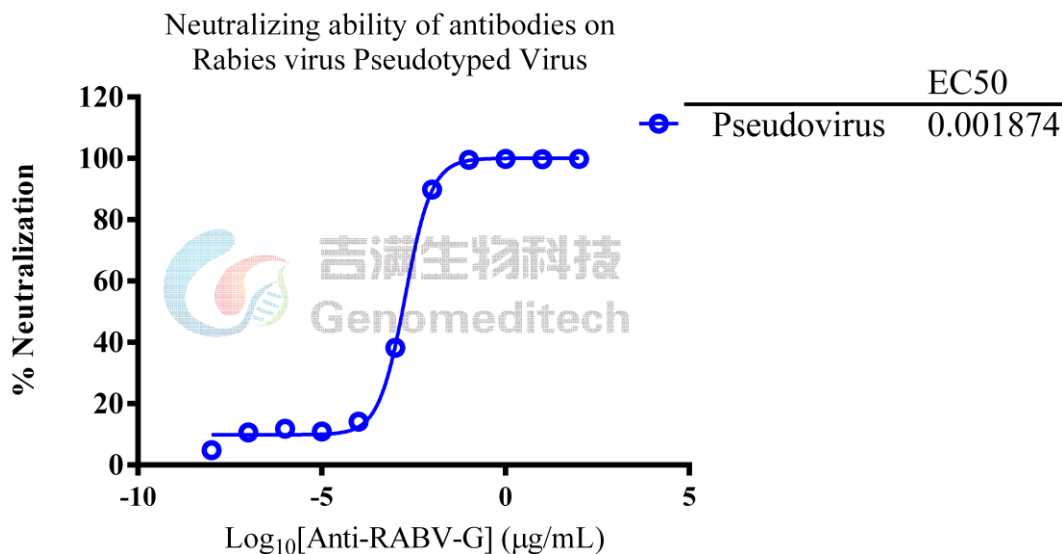


图3 使用 Anti-RABV-G 抗体的中和验证结果

七、 使用注意事项：

- 1、冻融会导致假病毒稳定性降低，从而影响检测结果，使用时应避免反复冻融。
- 2、病毒操作时请在生物安全柜中进行。
- 3、病毒操作时请穿好实验服，戴口罩和乳胶手套。
- 4、如果使用时本品不慎溅到眼睛、皮肤或其他身体部位请立即使用大量清水冲洗。
- 5、使用本品所产生的实验废弃物需要通过高压灭菌处理后按照医疗废弃物处理要求进行处理。

八、 相关产品

Rabies virus Pseudotyped Virus（可用于中和抗体筛选和评价）

货号	名称	规格
GM-0220PV136	Rabies virus (Pasteur vaccins/PV)	96T/480T/960T
-96T/480T/960T	Pseudotyped Virus (GFP-Luciferase)	
GM-78316AB	Anti-RABV-G mIgG1 Antibody	10 μg/100 μg/1 mg