

# 新冠病毒假病毒通用说明书

## 【产品名称】

通用名称：新冠病毒（SARS-CoV-2）假病毒

## 【包装规格】

500 $\mu$ L/管，1000 $\mu$ L/管

## 【预期用途】

新冠单克隆抗体、恢复期血清、疫苗免疫血清及小分子抑制剂等的中和活性体内、外评价。

## 【检验原理】

该假病毒体系携带有萤火虫荧光素酶（Firefly luciferase）报告基因，假病毒感染细胞后可通过荧光底物检测其发光值，以确定感染细胞的病毒量。该假病毒以水疱性口炎病毒（VSV）为骨架，表面镶嵌有新冠病毒 Spike 蛋白，可模拟真病毒与受体结合进而进入细胞的过程，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，通过检测对照孔和样品孔的发光值，可判断样品是否具有中和活性，且可计算出样品的有效作用浓度，即 EC<sub>50</sub> 值。该假病毒不能进行自主复制，仅具有单轮感染能力，生物安全等级低，操作简便，是目前疫苗评价的常用手段。

## 【主要组成成分】

完全培养基、新冠假病毒颗粒。

## 【储存条件及有效期】

-80 $^{\circ}$ C 密封贮存。有效期：12 个月。

避免反复冻融。

生产日期及有效期详见标签。

## 【检验方法】

- 1) 样品准备：豚鼠及人血清 56 $^{\circ}$ C 水浴灭活 0.5-1h，抗体起始浓度调至 300 $\mu$ g/mL；
- 2) 将 96 孔板四周的 36 个孔中加入 260 $\mu$ L 高压灭菌水封边，减少因边缘孔培养基蒸发带来的误差；
- 3) 第 2 列（细胞对照 CC）加入 DMEM 完全培养基 150 $\mu$ L/孔，第 3 列（病毒对照 VC）列加入 DMEM 完全培养基 100 $\mu$ L/孔，在 B4-B11 孔中加入培养基 142.5 $\mu$ L/孔，其余孔加入培养基 100 $\mu$ L/孔；
- 4) B4-B11 孔中加入待测样品 7.5 $\mu$ L；
- 5) 对 B4-B11 孔中液体轻柔的反复吹吸 6-8 次，然后转移 50 $\mu$ L 液体至对应的 C4-C11 孔，之后所有孔都 3 倍倍比稀释；

- 6) 用 DMEM 完全培养基将 SARS-CoV-2 假病毒稀释至  $1.3\sim 2.3\times 10^4$ TCID<sub>50</sub>/mL，于第 3~11 列每孔加 50μL；
- 7) 将上述 96 孔板置于细胞培养箱中（37℃，5%CO<sub>2</sub>）孵育 1h；
- 8) 待孵育 30min 后，开始消化 Huh-7 或 Vero 细胞，将细胞浓度稀释至  $2\times 10^5$  个/mL；
- 9) 孵育结束后，每孔加入 100μL 细胞，使每孔细胞为  $2\times 10^4$  个；
- 10) 放入 37℃，5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养 24h；
- 11) 培养完毕后，吸弃 250μL 上清，加入 100μL 荧光素酶检测试剂，室温避光反应 2min 后，反复吹打，转移 100μL 液体至白板中；
- 12) 使用 PerkinElmer EnSight 多功能成像酶标仪读取发光值（RLU）
- 13) 计算中和抑制率：

$$\text{抑制率} = \left( 1 - \frac{\text{样品组的发光强度均值} - \text{空白对照 CC 均值}}{\text{VC 均值} - \text{CC 均值}} \right) \times 100\%$$

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或者抑制率为 50% 时对应的抗体浓度

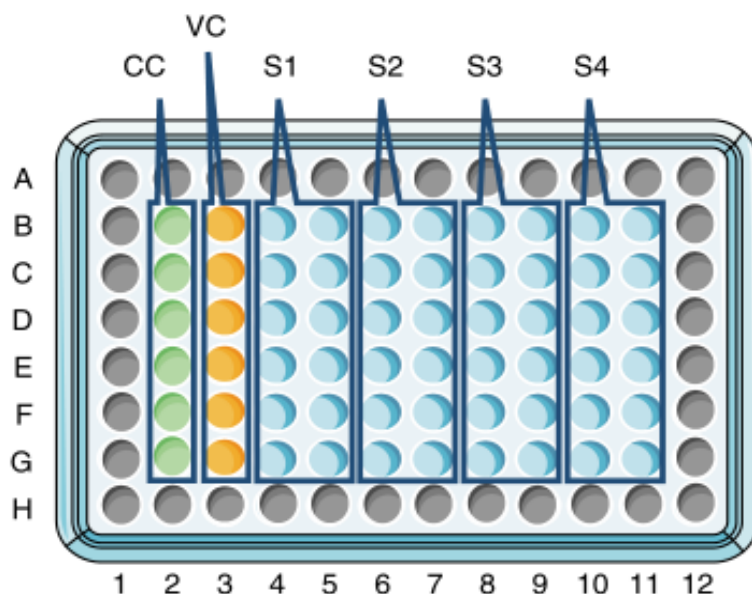


图 1 假病毒 96 孔板中和实验示意图

### 【阳性判断值】

中和实验过程中需要设置阴性对照、阳性对照作为参照，以判断实验是否成立；以人源血清为例，阴性对照 EC<sub>50</sub> 值应小于 30，阳性对照 EC<sub>50</sub> 值应大于 30。

### 【产品性能指标】

1. 外观 外观应满足如下要求：

包装完整，无破损，外观应整洁，文字符号标识清晰。

2. 发光值 按说明书进行稀释后使用，使用 PerkinElmer EnSight 多功能成像酶标仪读取的发光值不低于  $1 \times 10^6$ （若检测机器的灵敏度达不到 PerkinElmer EnSight 要求，发光值会相应降低，此结果与假病毒本身质量无关；反之，若检测机器的灵敏度高于 PerkinElmer EnSight，发光值将高于  $1 \times 10^6$ ）。

#### **【注意事项】**

1. 本产品仅供中和抗体体外检测。
2. 减少反复冻融。
3. 流水或  $4^{\circ}\text{C}$  融化使用。
4. 无菌操作。
5. 本产品不能重复使用。

#### **【基本信息】**

注册人/生产企业名称：北京天坛药物生物技术开发公司

住所：北京市东城区天坛西里 2 号

联系方式：电 话：010-57047888      传 真：010-57047999

售后服务单位名称：北京天坛药物生物技术开发公司

联系方式：电 话：010-57047888      传 真：010-57047999

生产地址：北京经济技术开发区建安街甲 2 号