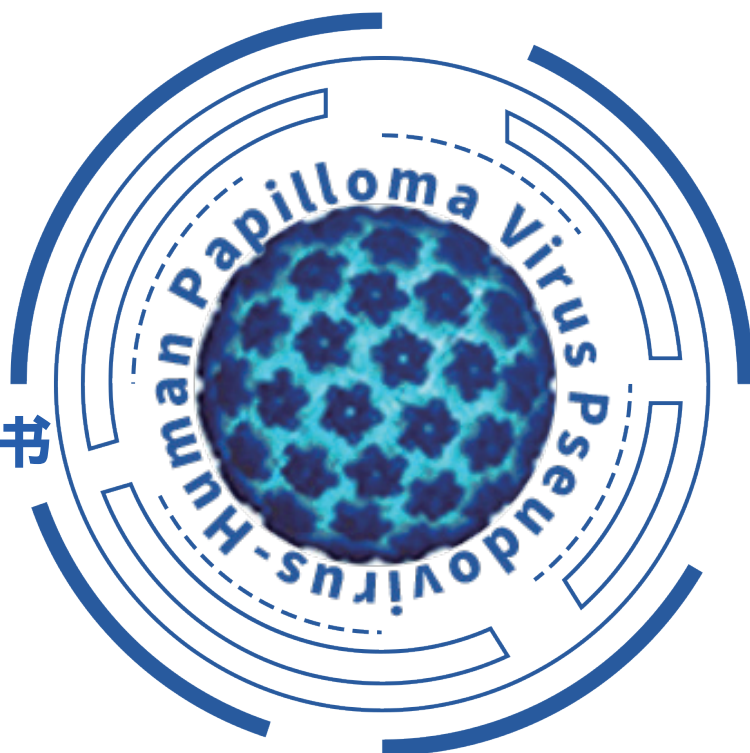


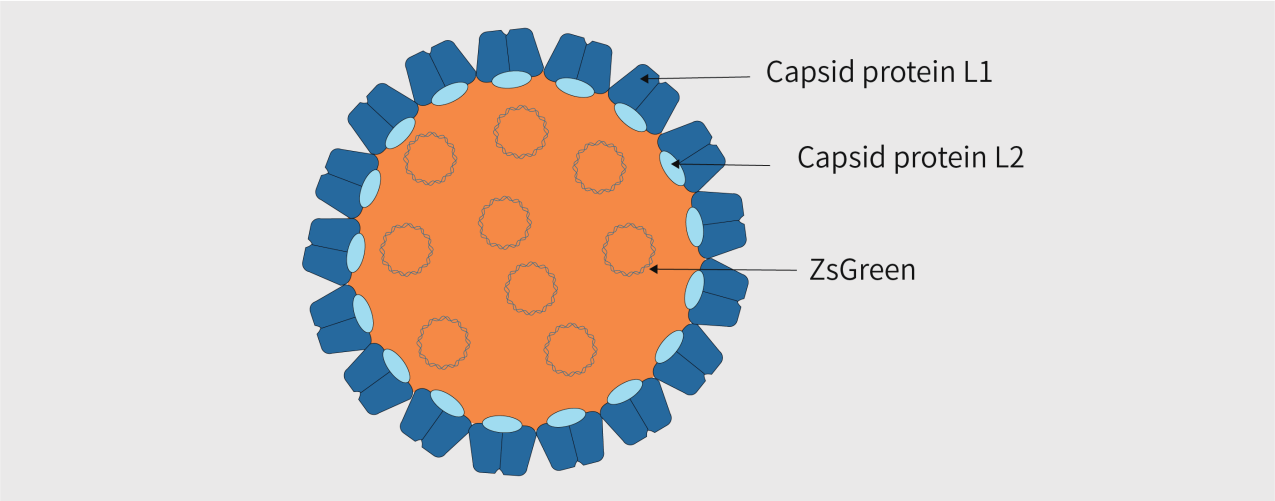
复百澳

## HPV中和抗体假病毒说明书



I 产品概述

本产品是基于不同型别的人乳头瘤病毒(Human Papilloma Virus, HPV)的衣壳蛋白 L1 和 L2 共同在 293T 细胞内表达后,自我组装形成的病毒样颗粒(Virus-like Particle, VLP),同时将含有报告基因的核酸序列包裹在假病毒内部。该假病毒结构高度类似活病毒,并具有单轮感染细胞活力,可表达报告基因,安全性好。



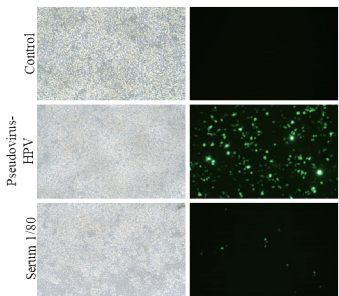
产品结构示意图

I 预期用途

- 1) 用于抗HPV血清中和抗体效价测试
- 2) 单抗中和抗体滴度检测。

I 检测原理

中和抗体是可以特异识别病毒表面的抗原中和位点,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。HPV 中和抗体假病毒含有病毒的中和抗原,且具有感染细胞活力;中和抗体可以识别 HPV 假病毒,并发生中和反应,降低 HPV 假病毒感染能力,导致携带的报告基因(如绿色荧光蛋白 zsGreen 等)表达量减弱。通过 Elispot 读数仪扫描计数每孔的荧光斑点数,将待测样品孔的数值与假病毒对照组的数值进行比较,可计算待测样品的抑制百分比。计算当 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。



HPV假病毒感染293T细胞72 h后检测荧光素酶表达

## 包装规格

1000孔/支

## 存储条件及有效期

置于-80±5℃条件下密封保存，有效期 12个月。

## 实验材料

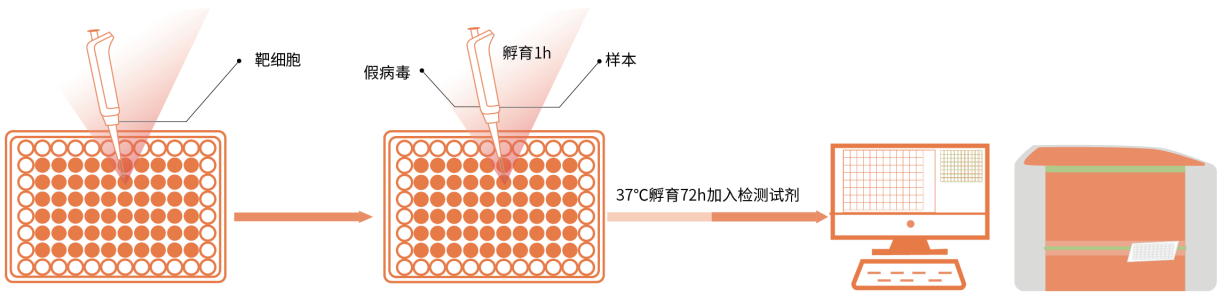
### 1、实验试剂

293T细胞、DMEM培养基、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<sub>2</sub>细胞培养箱、离心机、Elispot读数仪、水浴锅、移液器（单道、多道）、电动移液器、96孔细胞培养板

## 实验流程（以血清样本为例）



HPV中和抗体假病毒实验流程图

## 实验步骤

### 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  $1 \times 10^5$  cells/mL 细胞悬液, 96 孔板每孔接种 100  $\mu$ L 细胞液, 置于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中继续培养。

### 2、血清准备

- a) 血清样品置于56℃水浴锅中加热30 min（建议加热，去除补体干扰）；
- b) 稀释：使用DMEM培养基对血清样本进行稀释，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℃超低温冰箱中取出假病毒置于冰上或4℃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（1TCID<sub>50</sub>=1荧光斑点）；建议96孔板每孔加入1000TCID<sub>50</sub>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、待测血清样品和假病毒稀释液预孵育

将稀释的待测血清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℃、5%CO<sub>2</sub>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（包括细胞对照、假病毒对照）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℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养72 h。

### 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；使用Elispot荧光斑点计数仪进行检测，计算感染抑制率（%）；

### 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对照、细胞对照，来判定实验是否成立。

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


## I 注意事项

- 1) 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HPV抗血清或中和抗体滴度体外检测；
- 3) 假病毒、待测血清样本避免反复冻融；
- 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II级生物安全柜内进行，实验过程中产生的废弃物均需进行高压灭菌处理，并按医疗废弃物处理要求进行后续处理；
- 6) 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](http://www.fubio.cn)

 **Email:** [fubio@fubio.cn](mailto:fubio@fubio.cn)