产品简介

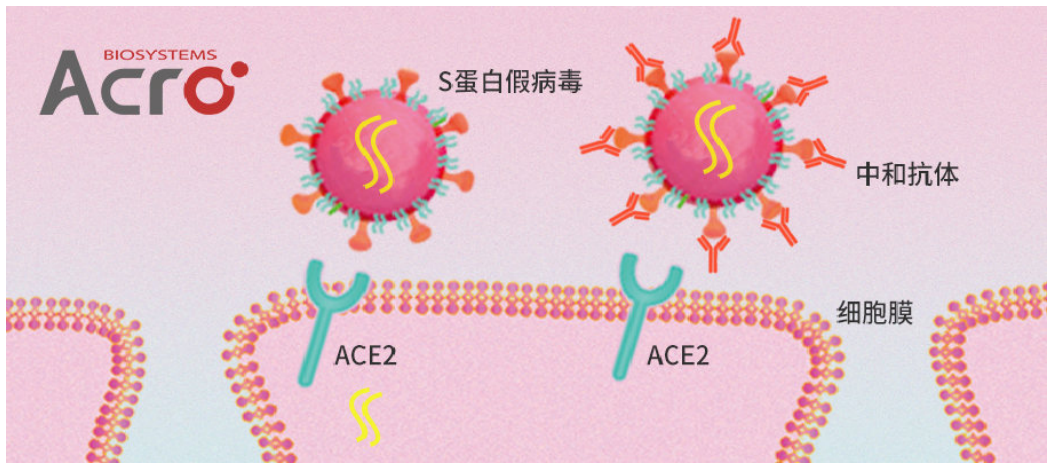
SARS-CoV-2 Spike (Delta) Fluc-GFP Pseudovirus（新冠 Delta 突变株 S 蛋白萤光素酶/绿色荧光蛋白报告基因假病毒）以 HIV-1 病毒为骨架，以 SARS-CoV-2 Spike 蛋白为包膜蛋白，含有编码萤火虫萤光素酶和绿色荧光蛋白的两个报告基因。该病毒可以高效感染过表达人 ACE2 的细胞株，可用于中和抗体滴度检测，新冠相关药物筛选，研究病毒入侵机制及疫苗研发等实验工作中。

突变位点（相对于野生型新型冠状病毒刺突蛋白，登记号：# QHD43416.1）：T19R, G142D, EF156-157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N **("EF156-157del, R158G" 等价于 "E156G, FR157-158del")**.

产品信息

名称	SARS-CoV-2 Spike (Delta) Fluc-GFP Pseudovirus
骨架	HIV-1
包膜蛋白	SARS-CoV-2 Spike 蛋白 (Delta | B.1.617.2)
报告基因	萤火虫萤光素酶，绿色荧光蛋白
外观	深红~深棕色透明液体
保存条件	-70℃
运输条件	干冰
应用	中和实验

中和实验原理图



假病毒中和实验操作流程

1. 配制 DMEM 完全培养基：89% DMEM 培养基 + 10% 胎牛血清 + 1% 盘尼西林 / 链霉素。
2. 室温融化病毒，使用 DMEM 完全培养基**根据您的预实验结果**稀释假病毒。一般来说，如果您使用的实验材料及微孔板酶标仪与本实验方案中提及的完全一致，我们推荐 125 倍的稀释（例：20 μL 假病毒产品 + 2.48 mL DMEM 完全培养基）。
3. 用 DMEM 完全培养基稀释您的样品，在全白 96 孔细胞培养板中，每孔添加 75 μL 稀释后的样品和 25 μL 稀释的假病毒。轻拍板侧边以混匀，将该板放在 37℃ 的环境中孵育 60 分钟。
4. 消化，离心去上清，并使用 DMEM 完全培养基重悬 HEK293/Human ACE2 Overexpression Stable Cells（ACROBiosystems, 货号：CHEK-ATP042）。计数，并使用 DMEM 完全培养基调整细胞密度至每毫升 4 ~ 5 × 10^5 细胞。向上一步的培养板中，每孔种入 100 μL 细胞悬液。轻拍板侧边混匀，将该板放在 37℃ 二氧化碳细胞培养箱中培养 48 小时。
5. 配制萤光检测试剂（britelite plus Reporter Gene Assay System（PerkinElmer，货号：6066761））并平衡至室温。
6. 取出上一步的培养板，小心地从每孔吸弃 100 μL 上清。室温放置 10 分钟以平衡至室温。每孔再加入 100 μL 萤光检测试剂，混合均匀，室温孵育 2 分钟。
7. 使用微孔板酶标仪（PerkinElmer, 货号：HH34000000）测定萤光值。
8. 使用以下公式计算抑制率：

$$\textbf{抑制率} = \left(1 - \frac{X - \overline{CC}}{\overline{VC} - \overline{CC}}\right) \times 100\%$$

X：某一孔的萤光值；
CC，细胞对照组，只加入细胞；
$\overline{CC}$，细胞对照组的萤光均值；
VC，病毒对照，只加入假病毒和细胞；
$\overline{VC}$，病毒对照组的萤光均值。

GFP成像实验操作流程

1. 配制 DMEM 完全培养基：89% DMEM 培养基 + 10% 胎牛血清 + 1% 盘尼西林 / 链霉素。
2. 室温融化病毒，**根据您的预实验结果**，向透明 96 孔板中加入适量假病毒。一般来说，加入的假病毒产品原液不应小于 4 μL. 随后加入适量DMEM完全培养基，将溶液体积补齐至 100 μL. 若计划通过此实验检测样品的中和能力，则可以在上述加入实验体系中的 DMEM 完全培养基中混入待测样品，并根据“假病毒中和实验流程”中的描述完成中和的实验过程。
3. 消化，离心去上清，并使用 DMEM 完全培养基重悬 HEK293/Human ACE2 Overexpression Stable Cells（ACROBiosystems, 货号：CHEK-ATP042）。计数，并使用 DMEM 完全培养基调整细胞密度至每毫升 4 ~ 5 × 10^5 细胞。向上一步的培养板中，每孔种入 100 μL 细胞悬液。轻拍板侧边混匀，将该板放在 37℃ 二氧化碳细胞培养箱中培养 48 小时。
4. 取出该板，吸弃培养上清。每孔加入 30 μL 胰酶，放回培养箱中消化 2 分钟。
5. 取出该板，每孔加入 170 μL DMEM 完全培养基以中和胰酶。
6. 使用移液器吹散混匀，吸取 100 μL 至 24 孔板的一个孔中。
7. 每孔补充 400 μL DMEM 完全培养基，混匀，将该 24 孔板放在 37℃ 二氧化碳细胞培养箱中再培养 48 小时。
8. 取出该板，使用倒置荧光显微镜拍摄 GFP 图片。推荐使用 20 倍物镜。

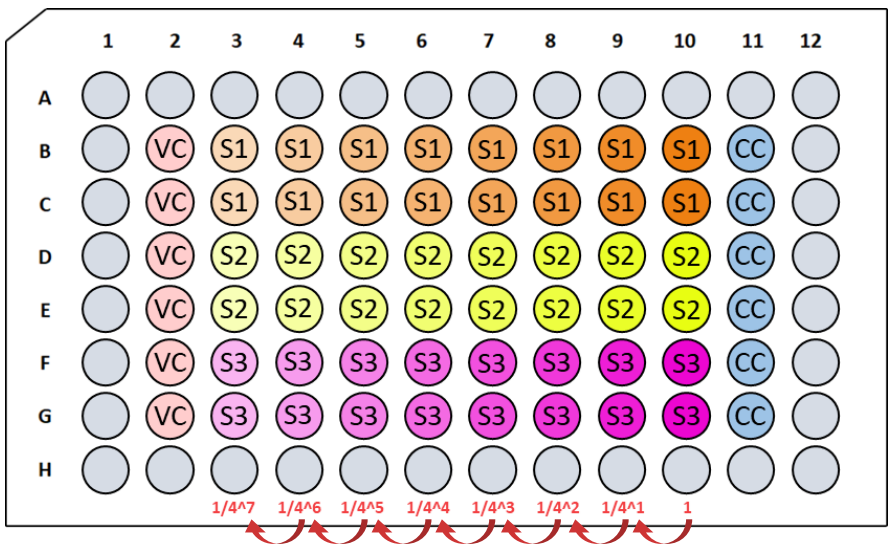
注意：

1. 请查阅“实验数据”部分，明确该病毒用量下，GFP 的成像效果。如果您希望有更高的 GFP 阳性率，或者您使用的细胞系与上文中提及的细胞系不同，请尝试提高病毒用量。
2. 如果您计划在一个更大的实验体系（如 6 孔板）中进行感染实验，我们建议您首先通过 96 孔板进行预实验，摸索合适的病毒用量，预估最终效果。

Tel: +86 010-6785-5298 order@acrobiosystems.com 北京经济技术开发区宏达北路8号，100176 www.acrobiosystems.com 该产品仅限于研究使用。

利用 96 孔板进行样品稀释

对于假病毒中和实验来说，多种布局方式和样品稀释策略都是可行的。这里我们以一个“3 个样品、4 倍梯度”的布局为例。



1. 向外圈灰色孔中每孔加入 200 μL PBS，以减少蒸发对实验结果的干扰。
2. 向 B2-G9 孔中加入75 μL 培养基，向 B11-G11孔中加入 100 μL 培养基。
3. 向 B10-G10 孔中加入 100 μL 培养基稀释的待测样品，样品浓度应为设计的第一个样品浓度梯度的 4/3 倍。
4. 使用八联排移液器，从 B10-G10 每孔中吸取 25 μL 分别至 B9-G9 孔，吹吸 10 次混匀。以此类推，直至 B3-G3 孔。
5. 从 B3-G3 每孔中吸取 25 μL 弃掉。
6. 向 B2-G10 每孔中加入 25 μL 假病毒稀释液，轻拍板侧壁混匀，随后继续进行中和实验的后续步骤。

注意事项

基本建议

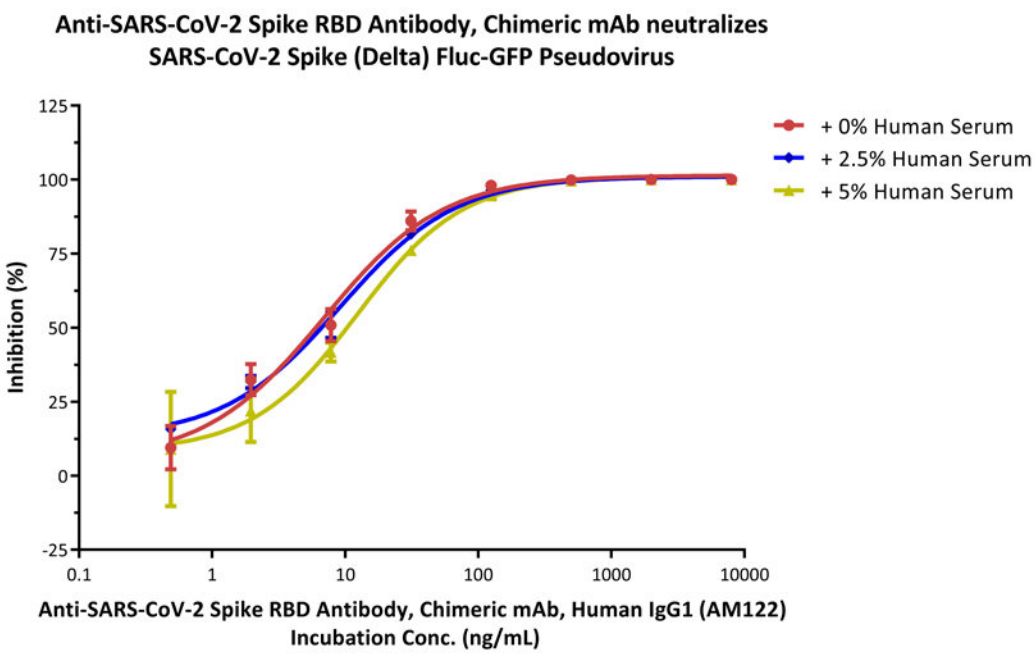
1. 尽管假病毒不具有复制能力和致病性，该实验仍需要在生物安全 2 级或更高级别实验室的生物安全柜中进行。
2. 血清样本在使用前，应首先于 56℃ 水浴锅中孵育 30 分钟，进行失活处理。
3. 假病毒滴度受冻融的影响较大，故尽量避免冻融该产品。
4. 该产品**仅限于研究使用**。

最佳病毒用量 / 报告基因选择

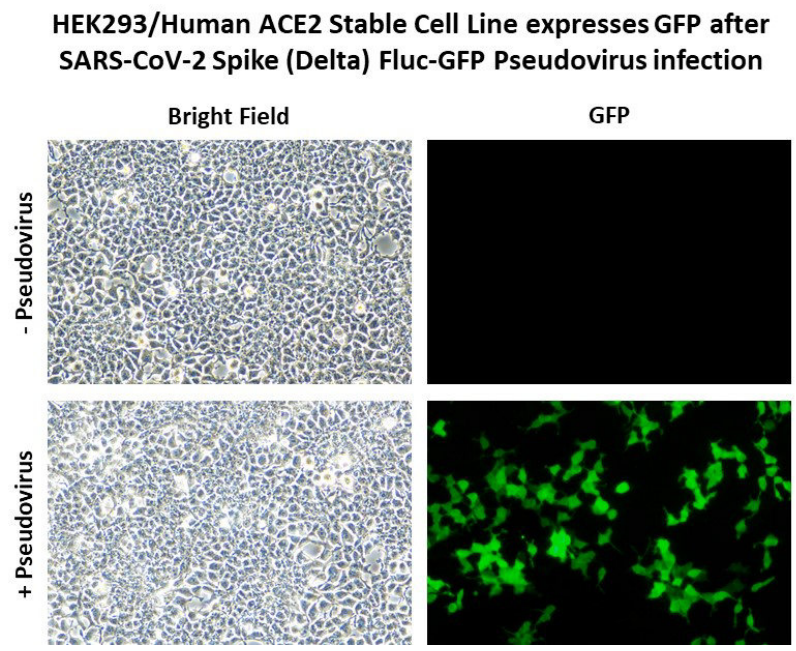
5. 定量实验中，萤光虫萤光素酶具有较高的灵敏度，因而是较为理想的报告基因。如果您希望使用绿色荧光蛋白成像，则需要**根据预实验**调整，建议相比于使用萤光虫萤光素酶为报告基因的实验，使用更高的病毒剂量以及更长的孵育时间。欢迎您与我司技术支持团队沟通交流。
6. 萤光值受到**细胞、检测试剂、检测仪器**等因素的影响较大，若您使用的材料或仪器型号与本操作流程中推荐的不完全相同，为保证信号值达到预期，建议首先通过预实验确定合适的细胞密度及病毒使用量等实验参数。
7. 根据萤光检测试剂的产品说明书，萤光值应该在加入检测试剂后 5 分钟以内读取，实验温度应在 22℃ 左右，否则萤光信号值会降低。同时，由于胎牛血清酚红等对检测试剂的工作有干扰，若您需要更高的萤光值，可以考虑检测前弃掉孔中全部培养基，随后加入 100 μL PBS 和 100 μL 检测试剂进行检测。

实验数据

生物活性 - 基于病毒的实验



SARS-CoV-2 Spike (Delta) Fluc-GFP Pseudovirus（货号：PSSD-HLGB002）适用于假病毒-抗体（ACROBiosystems，货号：S1N-M122）中和实验。基质（人血清）对该实验的影响不大。该实验的绝对 IC_{50} 值（抑制率达到 50% 时，对应的抗体孵育浓度）为：6.032-9.331（0% 人血清），6.681-9.374（2.5% 人血清），10.33-14.14（5% 人血清）ng/mL.



SARS-CoV-2 Spike (Delta) Fluc-GFP Pseudovirus（货号：PSSD-HLGB002）可以感染 人 ACE2 过表达细胞株（HEK293/Human ACE2 Overexpression Stable Cell Line（ACROBiosystems，货号：CHEK-ATP042）并使其产生绿色荧光。

注意：

1. 以上数据仅展示该产品的基本性质，对于特定批次的滴度和感染细胞后的萤光值，请以该批次COA的描述为准；
2. 若您需要相关实验的操作流程，任何帮助，以及其他信息，欢迎联系我司技术支持团队。联系方式：**TechSupport@acrobiosystems.com**.

Tel: +86 010-6785-5298 order@acrobiosystems.com 北京经济技术开发区宏达北路8号，100176 www.acrobiosystems.com 该产品仅限于研究使用。