

慢病毒滴度快速检测卡 (ATG-LT-02)

简介

本产品是采用横向流技术的胶体金检测四联卡，能半定量地快速确定包装液中是否含足够高的慢病毒滴度*。其原理是检测被分泌到包装上清中的慢病毒囊蛋白，从而确定病毒收获量是否达到需要。该方法仅需要 5~10 分钟即可得到结果，与传统转染方法需要花费 2~3 天相比，具有明显优势。

本产品每盒有 5 包四联卡和 2 管慢病毒标准品。其中标准品管 1 中装有慢病毒原液（ 1×10^6 TU/ml）500 μ L，标准品管 2 为空管，用时从标准品管 1 中吸取慢病毒原液（ 1×10^6 TU/ml）45 μ L，再加入 405 μ L 新鲜的细胞培养液混匀，用作于 10 倍稀释的慢病毒标准液（ 1×10^5 TU/ml）（详见**储存**）。

操作程序

- 1) 准备标准液：**用试剂盒中提供的两个标准品按下图顺序上样；或根据自己需要的转染滴度稀释标准品。标准管 2 需要在使用前稀释，混匀分装冻存。
- 2) 准备待测样本：**样本 1 最好是来自包装慢病毒的细胞（比如 293 细胞）培养上清液的原液，样本 2 是样本 1 的 3 倍、5 倍或 10 倍稀释液（建议使用者依实情选定）。
- 3) 加样：**将检测卡平放在实验台上，从上述准备好的 4 管样本（2 管标准品和 2 管待测样本）分别抽取 80 μ L，依次加入对应的加样孔。标准品和待测样本之间的上样时间差不要超过 30 秒，尽可能在短时间内完成。
- 4) 读取结果：**加样后 5~10 分钟读取结果。



对照线“C 线”通常在 5 分钟之内显色。检测线“T 线”根据包装上清中的病毒滴度不同，在 5~10 分钟内显色。通常，病毒滴度至少在 1×10^6 TU/mL 以上才对某些种类细胞具一定的转染效力。

储存

(1) 未拆包装的检测卡可在室温下保存 18 个月，请不要将检测卡冻存。

(2) 收到本产品后，请迅速将每个慢病毒标准品分装成 5 个标准管(90 μ L/管)，然后冻存在-20 $^{\circ}$ C，每次使用时取出 1 管。

慢病毒滴度快速检测卡 (ATG-LT-02)

*本法给出的是检测线（T 线）强度与功能滴度（Transduction Unit/mL, TU/mL）而非物理滴度（Viral Particle/mL, VP/mL）的相关性。这一相关性与病毒所转染的细胞有关。

常见问题解答

1. 检测卡的原理是什么？它能区分包装不完全的空病毒颗粒吗？能测纯化浓缩的病毒液吗？

本产品利用特异性识别慢病毒囊蛋白的抗体，检测分泌到病毒包装上清中的游离的囊蛋白，以此作为一个灵敏的、间接替代指标来显示病毒的滴度。抗体并不直接与病毒颗粒相结合，因而无法区分空载与完整的病毒颗粒。对于用超离心或 PEG 沉淀的方法浓缩的病毒颗粒，用裂解液将病毒裂解，释出囊蛋白后，依然可用检测卡半定量测定病毒滴度。

2. 该检测卡测定的是慢病毒的物理滴度还是感染滴度？

上述原理表明，对于病毒包装上清，本产品并不直接给出病毒物理滴度；对于浓缩的病毒颗粒，也只是半定量给出病毒物理滴度的数据。但与 FACS 得到的功能性数据相结合后，它能给出在细胞中实际感染滴度的一个大概范围。这种可重复的相关性是本检测卡的实用性所在。

3. 能通过比对说明书中的条带强弱，得出自己的病毒制备液的感染滴度吗？

说明书中的图片仅提供参考。因为病毒包装体系（包装细胞株、辅助质粒 GAG/TAT/REV/VSV-G 等）以及所感染的目的细胞（HEK293 或特定类型的细胞）的不同，我们强烈建议研究者在初次使用本检测卡时，能根据自己的系统，对应于不同的目的细胞，建立一个 T 线强弱与感染滴度相关性的对比图。以后的实验则可根据检测卡的 T 线强弱进行病毒感染滴度的快速判定。

4. 我制备的慢病毒包装液，T 线超强（是 C 线的 2 倍），显色特快（1 分钟），为什么不感染细胞？

本检测卡方法不是为了替代传统的感染滴度测定方法，而旨在帮助研究者快速确定本批包装的慢病毒是否可用，是否应继续下一步实验，还是将病毒浓缩或进行多次感染。以此可提早发现问题，提高工作效率、降低实验成本。至于有了很强的 T 线，仍然不能感染，则是具体生物学的问题，可能涉及这些细胞的病毒受体的表达和病毒进入后的降解（NK 细胞特强）。