

慢病毒滴度快速检测卡

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
OmL-05	慢病毒滴度快速检测卡	10 条	RT
	说明书	1 份	

一、运输和存储条件。

本产品常温运输，室温避光保存。

二、注意事项（请使用试剂盒前阅读此注意事项）。

1. 室温避光保存，保持干燥。
2. 建议使用含有慢病毒的细胞培养上清直接检测慢病毒滴度，若测量值超过最高滴度，请用 PBS 稀释（100 倍或 50 倍稀释）后再检测，测量值乘以稀释倍数即为细胞培养上清中的慢病毒滴度。
3. 为了您的健康，请穿实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜，使用生物安全柜。

三、产品简介。

本产品是以胶体金免疫层析技术为基础，通过快速检测慢病毒和假病毒外壳上的 P24 蛋白来确定病毒滴度的检测卡。本检测卡由样品窗（S）、质控线（C）和检测线（T）三部分组成。待测样品滴加到样品窗（S）中后，样品中的 P24 蛋白首先与胶垫上的胶体金标记的 P24 鼠单克隆抗体结合形成复合体，通过毛细电泳作用泳向检测线和质控线，到达检测线，被检测线上的另外一种 P24 鼠单克隆抗体识别并捕获。随着被捕获的复合体的堆积，检测线呈现出酒红色。当复合体继续向前泳动到质控线时，P24 鼠单克隆抗体被质控线上的胶体金标记的羊抗鼠多克隆抗体捕获，质控线呈现出酒红色。通过判读检测线和质控线是否显色，即可判断样品中是否存在 P24 蛋白。P24 蛋白浓度与检测线颜色的深浅呈正相关，通过与比色卡（图 1）对比，即可定量检出样品中的 P24 蛋白浓度，进而大致估算出慢病毒滴度。

四、检测卡用途：

1. 评估基于 HIV-1 的慢病毒或假病毒包装效率。
2. 估算基于 HIV-1 的慢病毒或假病毒滴度。

五、特点与优势。

1. 本产品操作简便，可快速检测慢病毒或假病毒的滴度。
2. 使用少量样品即可初步评估慢病毒包装效率。

六、使用说明

1. 打开包装，取出检测卡，平放在生物安全柜中。
2. 用移液器吸取 80 μ l 含有慢病毒的细胞培养上清或纯化慢病毒溶液，加入样品窗 S 中。
3. 室温静置 10-15 min，判读结果。（15 min 读取效果最佳，20 min 内完成结果判读。）
4. 结果判读：
 - 1) 质控线（C）不显色，无论检测线（T）是否显色，检测结果均无效。
 - 2) 质控线（C）和检测线（T）均显色，为阳性，即样品中含有慢病毒或假病毒。
 - 3) 质控线（C）显色，检测线（T）显色达到最深条带，用 PBS 适当稀释（100 倍或 50 倍稀释），重新检测。
 - 4) 质控线（C）显色，检测线（T）不显色，检测结果为阴性，即不含慢病毒。
 - 5) 慢病毒滴度评估。比对检测卡中检测线的颜色与图 1 中色谱条带颜色深浅，根据表 1 中所列出的 P24 蛋白浓度与慢病毒滴度之间的关系，大致估算出样品中的慢病毒滴度。

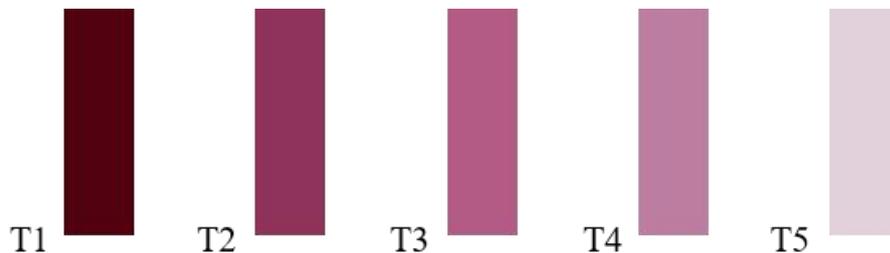


图 1. 比色卡（不同浓度 P24 蛋白显色条带色谱）

表 1. P24 蛋白浓度与慢病毒滴度关联表

条带编号	T1	T2	T3	T4	T5
P24 蛋白浓度	1000 ng/ml	500 ng/ml	100 ng/ml	50 ng/ml	10 ng/ml
LPs/ml	1.25×10^{10}	6.25×10^9	1.25×10^9	6.25×10^8	1.25×10^8
TU/ml	$1.25 \times 10^{7-8}$	$6.25 \times 10^{6-7}$	$1.25 \times 10^{6-7}$	$6.25 \times 10^{5-6}$	$1.25 \times 10^{5-6}$

七、慢病毒滴度估算原理：

1. 一个慢病毒颗粒 (Lentiviral Particle, LP) 中约有 2000 个 P24 蛋白分子，用以下公式可以计算慢病毒的颗粒数 (LP)。
2. 一个 LP 相当于： $2000 \times 24 \times 10^3 / (6 \times 10^{23}) \text{ g of P24} = 8 \times 10^{-5} \text{ pg P24}$ ；或者说 $1 \text{ ng P24} = 1.25 \times 10^7 \text{ LPs}$ ($\approx 1.25 \times 10^{4.5} \text{ TU}$)。
3. 正常情况下，每 100-1000 LPs 中会有 1 个具有感染活性的病毒载体，即 1 TU (Transducing Unit)。
4. 上述公式计算得到的 LP 值是理论值，检测样品中游离的 P24 蛋白可能会使该值偏高。
5. 本产品是半定量检测卡，数据仅供参考。

八、不同浓度 P24 蛋白标准品的检测卡显色情况。

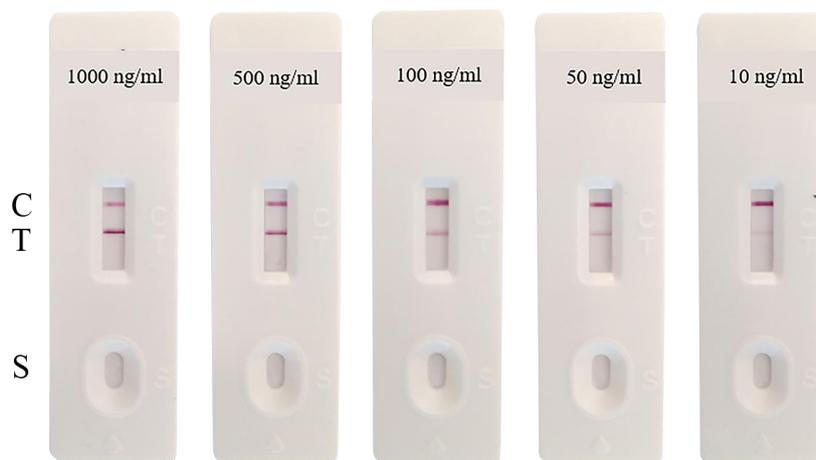


图 2.不同浓度 P24 蛋白标准样品检测结果。

九、常见问题与分析

问题	可能原因	解决方案
检测线及质控线颜色浅	样品中有干扰物质	PBS 稀释后重新检测
检测线颜色深	样品中慢病毒滴度高	PBS 稀释样品后重新检测
背景较深	培养基有背景颜色，pH 偏高等	PBS 稀释后重新检测
质控线没有显色	检测卡失效	使用新的检测卡