

## H7N9/H5N1 假病毒说明书

### 【产品名称】

通用名称：H7N9/H5N1 假病毒

### 【包装规格】

1000ul/管

### 【预期用途】

用于 H7N9/H5N1 抗血清或者单抗中和抗体滴度体外检测。

### 【检验原理】

中和抗体在体外与假病毒中和，使得假病毒丧失感染细胞的能力，进入细胞的假病毒会表达 fluc 蛋白，与发光底物反应后，通过机器检测其发光值，通过与假病毒对照组发光值比较，计算其抑制百分比，通过计算公式可以计算出当假病毒 50%被抑制时抗体的稀释倍数，来计算其 ID<sub>50</sub>，用 ID<sub>50</sub> 来表示抗体对假病毒中和活性大小。

### 【主要组成成分】

培养基，H7N9/H5N1 假病毒颗粒，牛血清，HIV 系统，表达 HA 和 NA 蛋白

### 【储存条件及有效期】

-80℃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。

### 【样本要求】

样本为 H7N9/H5N1 假病毒，可在体内复制一轮，操作时需在 P2 实验室操作，工作人员需做好自身防护，无菌条件下操作。

### 【检验方法】

- 1) 样品准备：豚鼠及人血清 56℃水浴灭活 0.5-1 小时，抗体起始浓度调至 300 μg/mL；
- 2) 将 96 孔板四周的 36 个孔中加入 260ul 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 μl/孔，第 3 列（病毒对照 VC）列加入 DMEM 完全培养基 100 μl/孔，在 B4-B11 孔中加入培养基 142.5 μl/孔，其余孔加入培养基 100 μl/孔
- 4) B4-B11 孔中加入待测样品 7.5 μl
- 5) 对 B4-B11 孔中液体轻柔的反复吹吸 6-8 次，然后转移 50 μl 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 H7N9/H5N1 假病毒稀释至 5000TCID<sub>50</sub>/mL，于第 3~11 列每孔加 50 μl
- 7) 将上述 96 孔板置于细胞培养箱中（37℃，5%CO<sub>2</sub>）孵育 1 小时
- 8) 待孵育 30min 后，开始消化 MDCK 细胞，将细胞浓度稀释至 3×10<sup>5</sup>cells/mL
- 9) 孵育结束后，每孔加入 100 μl 细胞，使每孔细胞为 3×10<sup>4</sup>cells
- 10) 放入 37℃，5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养 48 小时
- 11) 培养完毕后，吸弃 150 μl 上清，加入 100 μl Bright-Glo™ 荧光素酶检测试剂，室温避光反应 2min 后，反复吹打，转移 150 μl 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

#### 【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, 来判断实验是否成立, 阴性对照 ID50 小于 30, 阳性 ID50 大于 30 作为判断值

#### 【产品性能指标】

##### 1. 外观

外观应满足如下要求:

1.1 包装完整, 无破损; 外观应整洁, 文字符号标识清晰;

#### 【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. 流水或者 4 摄氏度融化使用。
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: 北京云菱生物技术有限公司

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: 北京云菱生物技术有限公司

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