

文件编号：REC-SOP-SC-001-02

新冠病毒假病毒通用说明书

【产品名称】

通用名称：新冠病毒（SARS-CoV-2）假病毒

【包装规格】

1 mL/支、5 mL/支、10 mL/支

【预期用途】

用于评估新冠病毒（SARS-CoV-2）单克隆抗体、恢复期血清、疫苗免疫血清及小分子抑制剂等的中和活性（体外）。

【检验原理】

本假病毒携带萤火虫荧光素酶（Firefly luciferase）报告基因，感染细胞后可通过荧光底物检测发光值，从而定量感染细胞的病毒量。该假病毒以水疱性口炎病毒（VSV）为骨架，表面展示新冠病毒 Spike 蛋白，可模拟真病毒与受体结合及进入细胞的过程。具有中和活性的样品与假病毒作用后，可抑制病毒感染细胞的能力。通过比较对照孔与样品孔的发光值，可判断样品的中和活性，并计算半数有效浓度（EC₅₀）。该假病毒缺乏自主复制能力，仅具单轮感染性，操作简便，是目前疫苗评价的常用工具。

【主要组成成分】

完全培养基、新冠假病毒颗粒。

【储存条件及有效期】

-70℃以下密封贮存。有效期：12个月。

避免反复冻融。

生产日期及有效期详见标签。

【运输条件】

运输温度需低于-50℃。货物送达后如暂不启用，应避免反复冻融，并严格遵照说明书规定的储存条件进行存放。



【检验方法】

- 1) 样品准备：动物或人血清样品 56℃水浴灭活 0.5-1h；单克隆抗体起始浓度调至 300μg/mL；
- 2) 将 96 孔板四周的 36 个孔中加入 260μL 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 150μL/孔，第 3 列（病毒对照 VC）列加入 DMEM 完全培养基 100μL/孔，在 B4-B11 孔中加入培养基 142.5μL/孔，其余孔加入培养基 100μL/孔；
- 4) B4-B11 孔中加入待测样品 7.5μL；
- 5) 对 B4-B11 孔中液体轻柔的反复吹吸 6-8 次，然后转移 50μL 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 SARS-CoV-2 假病毒稀释至 $1.3\sim 2.3\times 10^4$ TCID₅₀/mL，于第 3~11 列每孔加 50μL；
- 7) 将上述 96 孔板置于细胞培养箱中（37℃，5%CO₂）孵育 1h；
- 8) 待孵育 30min 后，开始消化过表达 ACE2 细胞，将细胞浓度稀释至 5×10^5 个/mL；
- 9) 孵育结束后，每孔加入 100μL 细胞，使每孔细胞为 5×10^4 个；
- 10) 放入 37℃，5%CO₂ 细胞培养箱中培养 24h；
- 11) 培养完毕后，吸弃 150μL 上清，加入 100μL 荧光素酶检测试剂，室温避光反应 2min 后，反复吹打，转移 150μL 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



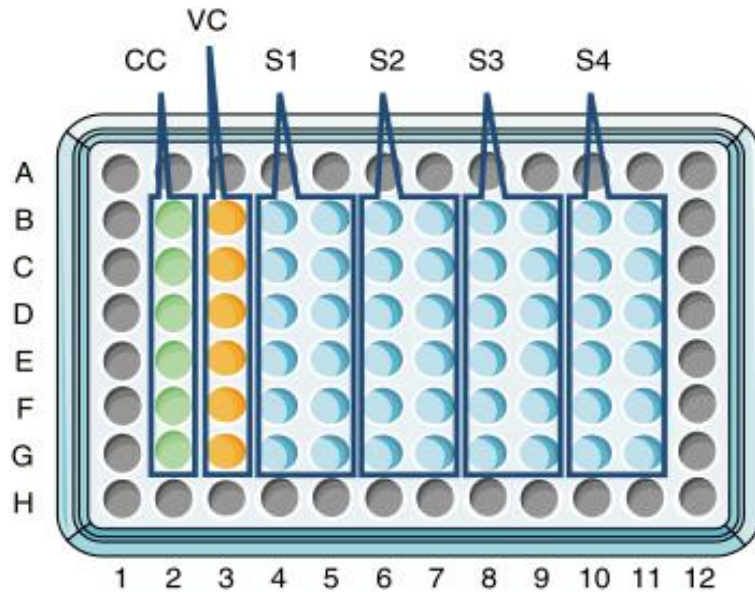


图 1 假病毒 96 孔板中和实验示意图

【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，以判断实验是否成立；以人源血清为例，阴性对照 EC_{50} 值应小于 30，阳性对照 EC_{50} 值应大于 30。

【产品性能指标】

1. 外观：包装完整、无破损，文字符号标识清晰。
2. 发光值：按说明书进行稀释后使用，使用 PerkinElmer EnSight 多功能成像酶标仪读取的发光值不低于 1×10^6 （若检测机器的灵敏度达不到 PerkinElmer EnSight 要求，发光值会相应降低，此结果与假病毒本身质量无关；反之，若检测机器的灵敏度高于 PerkinElmer EnSight，发光值将高于 1×10^6 ）。

【注意事项】

1. 本产品仅供实验室研究和检测使用。
2. 减少反复冻融。
3. 使用前置于流动水或 4°C 融化。
4. 需无菌操作。
5. 本产品不能重复使用。



6. 本说明书推荐的稀释倍数仅供参考，用户使用时可根据细胞种类、状态等
进行调整。

【基本信息】

生产企业名称：北京云菱生物技术有限公司

生产地址：北京市经济技术开发区建安街甲2号

联系方式：电 话：010-57047851 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：15313162012 传 真：010-57047999

【说明书核准日期及修订日期】2026年06月10日

