

慢病毒滴度快速检测卡（病毒包装专用）

货号	规格
RA10089	10T
RA10089	100T

常温保存，保质期一年

说明：本检测卡检测范围约0-3000ng（本数据仅供参考，具体情况以相关批次检测报告为准）

一、原理

本产品是基于胶体金侧向层析技术的 HIV-1 P24蛋白半定量检测卡，可以用于相关慢病毒载体和假病毒包装效率的快速评估（P24蛋白是慢病毒外壳中含量最大的标志性蛋白）。检测卡由层析膜、样品垫、金标垫、层析膜、吸水纸、背板等结构组成。在层析膜上固定有羊抗鼠多克隆抗体（质控线）和 P24鼠单克隆抗体（检测线）；在金标垫上固定有胶体金标记的另外一株 P24鼠单克隆抗体。待测样品滴加到样品垫，通过毛细作用泳向金标垫，到达金标垫后，样品中的 P24蛋白与金标垫鼠抗 P24单克隆抗体结合形成复合物。复合物移动到检测线时，被检测线上的另一株 P24鼠单克隆抗体所捕获。随着被捕获的复合物的堆积，在检测线上呈现出酒红色。当复合物泳动到质控线，羊抗鼠多抗捕获胶体金标记的鼠单克隆抗体，呈现酒红色。通过判读层析膜上检测线和质控线是否显色，判断样品中是否存在 P24抗原。当样品中 P24浓度变化时，检测线颜色的深浅与 P24浓度呈正相关，通过与比色卡（图1样例）比较，可以半定量待检标本中 P24蛋白浓度，并大致估算慢病毒的滴度。

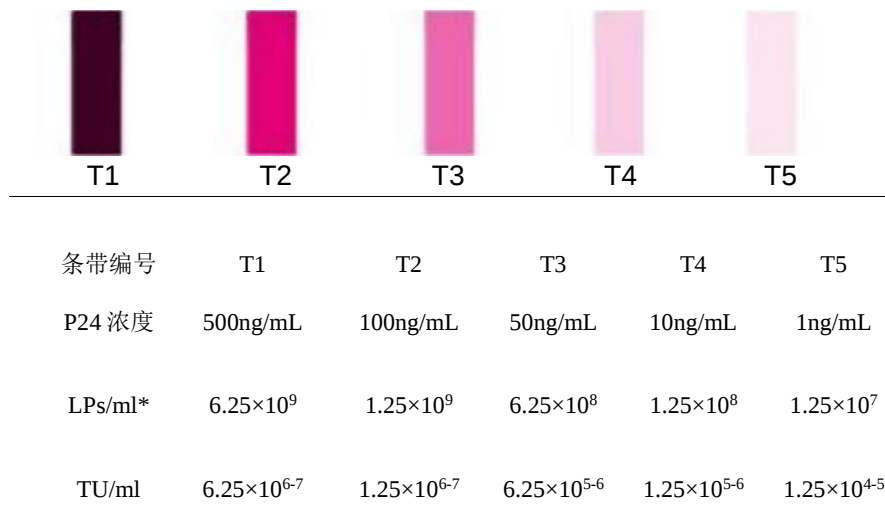


图1 比色卡数据

说明：因本产品为半定量检测卡，图 1 比色卡数据仅供参考

*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载体的颗粒数（LP）：

一个 LP 相当于： $2000 \times 24 \times 10^3 / (6 \times 10^{23}) \text{g of P24} = 8 \times 10^{-5} \text{pg of P24}$ ；或者说， $1\text{ng P24} = 1.25 \times 10^7 \text{LPs}$ ($\approx 1.25 \times 10^{4-5} \text{TU}^{**}$)

**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) 。

注意：上述公式计算得到的 LP 值是理论值，检测样品中含有的游离的 P24 蛋白可能会使该值偏高。

提示：通常上清中病毒含量需要超过 10^6 TU/ml，才能确保浓缩纯化后得到足够浓度的慢病毒载体（一般能浓缩 150倍左右）。

二、用途

1.基于 HIV-1的慢病毒载体包装效率检测

无论使用何种慢病毒包装系统，包装效率都是决定试验成败的关键。传统的慢病毒包装效率检测的方法有 ELISA 法（检测 P24蛋白含量）和 Real-time PCR 法（检测核酸拷贝数），这两种方法都耗时费力，且成本高。与这两种方法相比，本产品使用简便，检测时间短，可以随时对转染效果进行评估。如在更换培养基时，吸取样品滴加到检测卡上，10-15min 后即可判读结果。因此，使用本快速检测卡，可以快速评估转染效果，减少不必要的浪费。

2.基于 HIV-1的假病毒包装效率检测

基于 HIV-1的假病毒同样含有 P24蛋白。在转染后，可以使用本检测卡对包装效果进行快速评估。

三、组成

1) 检测卡；2) 缓冲液；3) 说明书

四、使用方法

- 1、打开包装取出检测卡，平放在生物安全柜台面上；
- 2、用微量移液器吸取 20 μ l 细胞培养上清，滴加到样品窗（S）中；再加入 50 μ l 缓冲液；
- 3、静止 10-15 min 后即可判读结果。

五、结果判断

- 1.阴性：质控线（C）显色，检测线（T）不显色，为阴性；
- 2.阳性：质控线（C）和检测线（T）均显色，为阳性；
- 3.无效：质控线（C）不显色，无论检测线（T）是否显色，检测均无效。
- 4.P24 含量请根据比色卡进行判断。（如果 T 颜色过深，可以稀释样品重测）



图2 检测卡显色样式

六、问题及解决

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	用 DMEM 稀释后再次检测
检测失败	检测卡失效	检查保质期、避免开袋后受潮
背景较深	培养基 pH、盐浓度过高或其他干扰	用 PBS 稀释数倍再次检测

本检测卡仅限于科研使用