



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

新型冠状病毒(2019-nCoV) N基因假病毒

产品编号	产品名称	包装
C3021-100μl	新型冠状病毒(2019-nCoV) N基因假病毒	100μl
C3021-1ml	新型冠状病毒(2019-nCoV) N基因假病毒	1ml

产品简介:

- 碧云天生产的新型冠状病毒(2019-nCoV) N基因假病毒(Novel Coronavirus (2019-nCoV) N Gene Pseudovirus), 是含有新型冠状病毒N基因的慢病毒(Lentivirus), 该病毒由RNA和外壳蛋白组成, 但无致病性, 只需符合常规慢病毒操作要求的实验室即可使用, 可用于N基因的细胞功能实验, 也可作为阳性对照或质控用于新型冠状病毒的RNA抽提、qRT-PCR检测, 各种相关试剂盒的模拟测试、性能评价等用途。
- 本假病毒全称为Lenti-EF1α-2019-nCoV-N-Flag/His-CMV-Puro, 启动子为EF1α和CMV, C端蛋白标签为Flag和6×His, 筛选抗性为Puromycin。
- 2019年底由新型冠状病毒引起的肺炎疫情, 从2020年初开始在全球大流行, 感染病例快速上升, 引发全球关注。该病毒被世界卫生组织(WHO)命名为2019-nCoV, 被国际病毒分类委员会命名为严重急性呼吸综合征冠状病毒2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)。由新型冠状病毒导致的疾病, 被世界卫生组织正式命名为冠状病毒疾病2019 (Corona Virus Disease 2019, COVID-19), 通常称为新型冠状病毒肺炎, 简称‘新冠肺炎’。
- 新型冠状病毒(2019-nCoV)属于单正链的RNA病毒, 与SARS-CoV以及MERS-CoV具有较高的同源性。新型冠状病毒的基因组包含11个基因, 其中功能较为重要的5个基因分别是: ORF1ab基因、S基因、E基因、M基因、N基因。本假病毒将新型冠状病毒的N基因序列(Gene ID: 43740575, Protein_Id为YP_009724397.2)合成并克隆构建至慢病毒载体, 在293T细胞内进行假病毒的制备, 所获得的假病毒包含N基因1260碱基的RNA序列。N基因编码的N蛋白是一种核衣壳碱性磷酸化蛋白(nucleocapsid phosphoprotein), 位于病毒颗粒的核心部分, N蛋白首先是与基因组RNA在胞浆中结合形成螺旋卷曲的核衣壳, 并与M、E蛋白相互作用后包裹进入病毒衣壳内, S蛋白在病毒膜出芽成熟时插入, 并与M蛋白相用后形成病毒体从囊泡中释放。N蛋白在病毒的包装、复制和蛋白质翻译等过程中起关键作用。作为一种高度保守的抗原蛋白, N蛋白可用于特异性识别患者样本中的病毒靶点抗原, 所以N基因和N蛋白常作为冠状病毒的检测诊断工具, 而新型冠状病毒(2019-nCoV) N基因假病毒更广泛用于RNA抽提、qRT-PCR检测的阳性对照或阳性质控品, 也是各种相关试剂盒的模拟测试、性能评价的有力工具。
- 本假病毒的病毒滴度 $\geq 1 \times 10^8$ IU (Infection Unit)/ml, 即每毫升病毒液中至少含有 1×10^8 个具有生物活性的病毒颗粒。滴度检测采用整合数法, 即病毒感染HEK293细胞后, 提取HEK293细胞的基因组DNA, 以慢病毒载体上的通用引物进行qPCR获得病毒整合拷贝数。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C3021-100μl	新型冠状病毒(2019-nCoV)N基因假病毒(10^8 IU/ml)	100μl
C3021-1ml	新型冠状病毒(2019-nCoV)N基因假病毒(10^8 IU/ml)	1ml
—	说明书	1份

保存条件:

-80°C保存, 一年有效。

注意事项:

- 本产品使用前请仔细阅读附录1《慢病毒使用安全规范》。虽然本假病毒使用的是较安全的慢病毒载体, 没有确凿证据显示会导致健康成人产生疾病(Not known to consistently cause diseases in healthy adults), 但在使用本假病毒时仍需在生物安全等级 Biosafety Level 2 (BSL-2)或更高标准的经认证的II级生物安全柜中进行。
- 反复冻融会降低病毒滴度, 如有必要请在收到本产品后分装保存。病毒融解后, 如果在一周内使用, 可以放置于4°C。如果-80°C保存时间超过一年, 可能会导致滴度下降, 此时建议重新测定病毒滴度。
- 本假病毒对不同细胞的感染效率或感染复数(multiplicity of infection, MOI)存在差异, 建议通过预实验确定感染效率或MOI。
- 如有需要可以使用TE (Tris-EDTA缓冲液) (ST725)对本产品进行稀释。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 将假病毒从-80°C冰箱取出后,置于冰浴中融化,根据实验需要在生物安全柜中吸取相应体积的假病毒进行后续的实验操作。对于细胞感染,一般12小时左右即可换液,48-72小时即可进行功能性实验。
2. RNA抽提:本产品可以使用RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)(R0035)进行假病毒RNA的抽提。
3. qPCR检测:假病毒RNA经反转成cDNA后进行qPCR定量检测实验,或使用碧云天的新型冠状病毒(2019-nCoV)双荧光qRT-PCR试剂盒(D8006)直接进行检测。

附录:

1. 慢病毒使用安全规范

- a. 慢病毒是一种相对安全的病毒,但慢病毒基因组在感染后会整合进入宿主细胞基因组中,因此具有可能的潜在生物学危险。我们建议使用者在病毒操作前应仔细阅读本规范,并在实验中严格按照本规范的要求进行操作。更为严格的美国CDC的生物安全等级及其操作与防护要求参考附录3,也可以访问如下网页:
<https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>。
- b. 慢病毒操作时应使用BSL-2或以上级别的生物安全柜。
- c. 实验操作时必须佩戴一次性帽子、口罩,穿戴实验手套及专门的实验服,避免身体直接接触病毒。手部及面部有开放性创口时,禁止进行病毒操作。
- d. 操作病毒时需小心谨慎,不要产生气雾或飞溅。如果操作时超净工作台或其它器皿上有病毒污染,请立即用70%乙醇或2% SDS溶液擦拭干净,或者采取其它的妥善措施。
- e. 如果需要离心,应使用密封性好的离心管,或用封口膜密封后离心,最好使用专门的离心机。
- f. 用显微镜观察细胞感染情况时应遵从以下步骤:拧紧培养瓶或盖紧培养板,用70%乙醇清理培养瓶或培养板外壁后到显微镜处观察拍照。离开显微镜实验台之前,用70%乙醇擦洗显微镜实验台。
- g. 所有被病毒污染过的枪头、离心管、培养板(皿、瓶)、培养液、手套等,在丢弃前请用84消毒液或2% SDS浸泡过夜。
- h. 脱掉手套后,用肥皂或洗手液清洗双手。

2. 病毒MOI的计算

MOI (Multiplicity of Infection)定义:病毒感染细胞时,病毒数量与细胞数量的比值。

IU (Infection Unit)定义:每毫升病毒液中含有生物活性的病毒颗粒数量。

可以根据如下公式计算所需IU:

所需IU=细胞数量×MOI

例如,需要向 1×10^5 细胞中加入2 MOI的病毒,即所需IU= $(1 \times 10^5 \text{ cells}) \times (2 \text{ MOI}) = 2 \times 10^5 \text{ IU}$ 。若病毒母液滴度为 $1 \times 10^8 \text{ IU/ml}$,则细胞培养液中应加入 $(2 \times 10^5 \text{ IU}) / (1 \times 10^8 \text{ IU/ml}) = 0.002 \text{ ml}$ 病毒母液,即 $2 \mu\text{l}$ 病毒母液。

3. 生物安全等级及其操作与防护要求

Table 1. Summary of Recommended Biosafety Levels for Infectious Agents

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D8006S	新型冠状病毒(2019-nCoV)双荧光qRT-PCR试剂盒	100次
D8006M	新型冠状病毒(2019-nCoV)双荧光qRT-PCR试剂盒	500次
P0312S	新型冠状病毒M ^{pro} /3CL ^{pro} 抑制剂筛选试剂盒	100次
P0312M	新型冠状病毒M ^{pro} /3CL ^{pro} 抑制剂筛选试剂盒	500次
P9731-0.1ml	MCA-AVLQSGFR-Lys(Dnp)-Lys-NH ₂ (冠状病毒蛋白酶荧光底物)	20mM×0.1ml
P9731-5mg	MCA-AVLQSGFR-Lys(Dnp)-Lys-NH ₂ (冠状病毒蛋白酶荧光底物)	5mg
P9731-25mg	MCA-AVLQSGFR-Lys(Dnp)-Lys-NH ₂ (冠状病毒蛋白酶荧光底物)	25mg
P9733-0.1ml	Dabcyl-KTSAVLQSGFRKME-Edans (冠状病毒蛋白酶荧光底物)	20mM×0.1ml
P9733-5mg	Dabcyl-KTSAVLQSGFRKME-Edans (冠状病毒蛋白酶荧光底物)	5mg
P9733-25mg	Dabcyl-KTSAVLQSGFRKME-Edans (冠状病毒蛋白酶荧光底物)	25mg
R0011	Beyozol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0016	Trizol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0035S	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0035M	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次

R0035L	RNAeasy™病毒RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0036-200µg	Carrier RNA	200µg
R0036-1mg	Carrier RNA	1mg
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
R0141-100ml	RNALater™病毒RNA稳定保存液	100ml
R0141-500ml	RNALater™病毒RNA稳定保存液	500ml
R0143-100ml	病毒样品常规保存液	100ml
R0143-500ml	病毒样品常规保存液	500ml
R0145-100ml	BeyoDirect™ RNA病毒直接qRT-PCR保存液	100ml
R0145-500ml	BeyoDirect™ RNA病毒直接qRT-PCR保存液	500ml
FSF002	荧光定量PCR用封板膜(ABI分装)	10片
FTUB333	荧光定量PCR用96孔板(ABI原装)	10个
FTUB384	荧光定量PCR用384孔板(ABI分装)	10个

Version 2020.08.03