

腺病毒操作手册

☎ 售前tel:400-092-0065
☎ 售后tel:400-092-0566



汉恒生物科技（上海）有限公司

- 📍 地址：上海浦东新区蔡伦路150号1号楼
- ✉ 邮箱：service@hanbio.net
- ☎ 电话：021-51296258
- ☎ 免费热线：400-092-0065
- 🌐 <http://www.hanbio.net>

扫一扫 关注汉恒生物公众号
咨询更多服务内容

目录

腺病毒安全使用注意事项 /01

腺病毒储存与稀释的注意事项 /01

腺病毒的感染与使用 /02

-腺病毒感染目的细胞 /02

1、腺病毒感染细胞预实验 (MOI的摸索) /02

2、腺病毒感染贴壁细胞 /04

3、特殊细胞的感染注意事项 /05

-腺病毒用于动物实验 /05

腺病毒使用的FAQ /06

附：腺病毒滴度测定方法 /10

腺病毒安全使用注意事项

- 01 腺病毒相关实验请在生物安全柜 (BL-2级别) 内操作。
- 02 操作病毒时请穿实验服, 佩戴口罩和手套, 尽量不要裸露双手及手臂的皮肤。
操作病毒时需要特别小心病毒溅出。如果操作时超净工作台有病毒污染, 请立即用70%乙醇加1%的SDS溶液擦拭干净。接触过病毒的枪头、离心管、培养板及培养瓶请用84消毒液浸泡后统一处理。
- 03 如实验过程中需要离心, 应使用密封性好的离心管, 必要时请用封口膜封口后离心。
- 04 病毒相关的废弃物需要特殊收集, 统一经高温灭菌后处理。
- 05 实验完毕后请用香皂清洗双手。

腺病毒储存与稀释的注意事项

+ 腺病毒的储存

收到病毒液后若在短期内使用, 可将病毒放置于 4°C 保存 (一周内使用完最佳); 如需长期保存请分装后放置于 -80 °C。

注: a. 在病毒使用过程中尽量避免反复冻融, 反复冻融会降低病毒滴度 (每次冻融会使病毒滴度降低10%~50%)。汉恒生物对病毒已进行分装 (200 μL/tube), 收到后请直接放置-80°C冰箱保存即可。

b. 若病毒储存时间超过6个月, 汉恒生物建议在使用前重新测定病毒滴度。(滴度测定方法见附录)

+ 腺病毒的稀释

需要稀释病毒时, 请将病毒取出置于冰浴融解后, 使用PBS或培养目的细胞用的无血清培养基(含血清或含双抗不影响病毒感染)混匀分装后置于 4°C 保存(一周内使用完最佳)。如原病毒标记的滴度为 1×10^{10} PFU/mL, 取 $10 \mu\text{L}$ 至 $90 \mu\text{L}$ 的常规培养基中, 即可得到 1×10^9 PFU/mL 滴度的病毒。

腺病毒的感染与使用

+ 腺病毒感染目的细胞

1 腺病毒感染细胞预实验 (MOI的摸索)

MOI (Multiplicity of Infection, 感染复数) 是指每个细胞感染的病毒数, 通常MOI越高, 目的蛋白的表达量越高, 但是毒性也会随之变大。对于分裂活跃的细胞, 比如Hela、293细胞, MOI=1~3时, 80%以上的细胞均表达目的基因。而对于非分裂细胞, 比如原代细胞, 感染效率较低。需要进行MOI梯度摸索实验, 选择适合的MOI进行实验。

◆ 24孔板摸索MOI:

Day 1: 细胞准备

以293T细胞为例, 将生长状态良好的目的细胞消化计数后稀释至 3×10^5 /mL, 加入24孔板, $500 \mu\text{L}$ /孔 (1.5×10^5 个细胞)。放入 37°C , 5% CO_2 培养箱中培养过夜。因细胞的大小和生长速度略有不同, 一般是建议保证第二天进行病毒感染的时候细胞汇合率介于30%至50%之间。

Day 2: 病毒感染 (1/2小体积感染法) 及换液

我们推荐1/2小体积感染法, 即病毒感染时, 加入1/2体积新鲜培养液, 加入腺病毒感染4h后补足至培养体积。24孔板感染时的培养体积为 $250 \mu\text{L}$ 。

感染前, 从冰箱取出并在冰上慢慢融化病毒。如需稀释, 按原病毒标记的滴度 1×10^{10} PFU/mL 计算, 取 $30 \mu\text{L}$ 至 $270 \mu\text{L}$ 的常规培养基中, 即可得到 1×10^9 PFU/mL 滴度的病毒。

分别取MOI为10, 30, 100, 300, 500进行预实验, 摸索最适MOI, 以腺病毒滴度 1×10^{10} PFU/mL 为例 (稀释后滴度为 1×10^9 PFU/mL), 不同的MOI值加入的病毒量见下表:

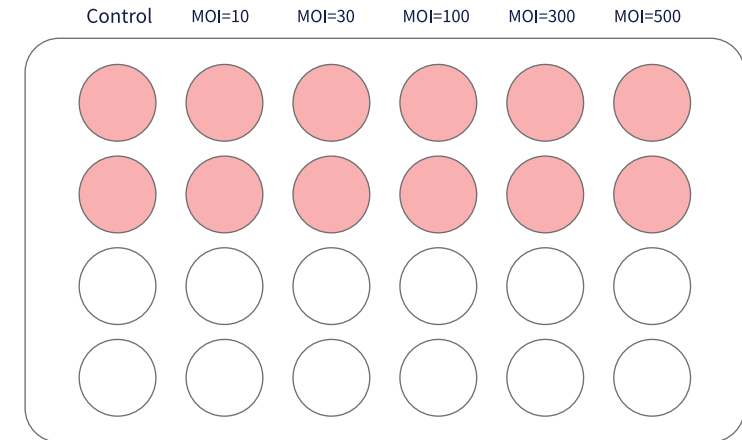


图1 24孔板示意图

注: 保持细胞形态清晰、生长良好、无污染, 为了减小误差, 推荐平行感染2~3个复孔。

表1 24孔板每孔不同MOI值加入病毒液体积

细胞数量	MOI值	稀释后滴度 (PFU/mL)	稀释后病毒液体积 (μL)
1.5×10^5	10	1×10^9	1.5
1.5×10^5	30	1×10^9	4.5
1.5×10^5	100	1×10^9	15
1.5×10^5	300	1×10^9	45
1.5×10^5	500	1×10^9	75

注: 每孔加病毒量 (μL) = MOI × 细胞数 / 病毒滴度 (PFU / mL) × 1000
MOI = (病毒滴度 × 病毒体积) / 细胞数目

腺病毒加入4h后, 补足至 $500 \mu\text{L}$ 培养体积。感染后10-16h, 吸去含病毒的培养液, 换上新鲜的完全培养液, 继续 37°C 培养。

Day 3-4: 观察荧光

感染36-48h显微镜观察荧光。感染效率80%左右,且细胞生长状态良好的组,对应的感染条件和MOI即可作为后续感染实验参考MOI。

注:如果病毒不表达荧光,还可以通过目的基因的qPCR、WB、免疫荧光、免疫组化等方法摸索最佳MOI。

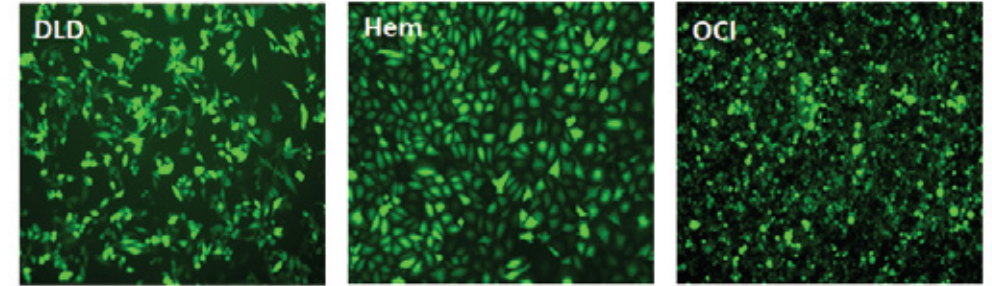


图2 腺病毒感染细胞荧光图

2 腺病毒感染贴壁细胞

Day 1: 细胞准备

以293T细胞为例,将生长状态良好的目的细胞消化计数后稀释至 3×10^5 /mL,加入24孔板,500 μ L/孔(1.5×10^5 个细胞)。放入37°C,5% CO₂培养箱中培养过夜。因细胞的大小和生长速度略有不同,一般是建议保证第二天进行病毒感染的时候细胞汇合率介于30%至50%之间。

Day 2: 病毒感染(1/2小体积感染法)及换液

我们推荐1/2小体积感染法,即病毒感染时,加入1/2体积新鲜培养液,加入腺病毒感染4h后补足至正常培养体积。具体步骤如下:

感染前,从冰箱取出并在冰上慢慢融化病毒,吸去细胞原有培养基,加入1/2体积新鲜培养基,根据摸索的MOI值,加入合适体积的病毒轻轻混匀,进行感染(每孔加病毒量(μ L)=MOI \times 细胞数/病毒滴度(PFU/mL) \times 1000)。感染4h后补足至完全培养体积。

表2 不同培养皿加入的培养液体积(腺病毒1/2培养体积感染法)

培养皿类型	表面积/cm ²	培养基体积	1/2培养体积
96-well	0.3 cm ²	100 μ L	50 μ L
24-well	2 cm ²	500 μ L	250 μ L
12-well	4 cm ²	1 mL	500 μ L
6-well	10 cm ²	2 mL	1 mL

感染后10-16h,吸去含病毒的培养液,换上新鲜的完全培养液,继续37°C培养

Day 3-4: 观察荧光

感染后24-48 h,对于带GFP报告基因的病毒,可通过荧光显微镜观测GFP表达效率。

3 特殊细胞的感染注意事项

1 感染悬浮细胞

感染悬浮或半悬浮细胞,则需要通过平角离心转染法,即将适量的病毒液加入细胞培养皿后,封好口,放入平角离心机后,低速(1200g)离心1 h,然后放入培养箱中正常培养即可。若由于实验条件有限,没有平角离心机,可用离心管代替,将细胞吹打吸入离心管中,进行低速离心,去掉大部分上清,然后加入适量的病毒液,轻轻吹打混匀5-10下,室温放置15 min(尽量不要超过30 min,间隔10min可以再吹打一次),然后将细胞和病毒液同时吸出转入培养皿中继续病毒感染即可。

2 对于极难感染的细胞

对于极难感染的细胞,如DC(树突状细胞)等,可采用多次感染的方法,即感染24 h后,直接二次加入病毒液进行重复感染,可显著提升感染效率。

+ 腺病毒用于动物实验(必须使用纯化的腺病毒,以小鼠尾静脉注射为例说明)

将纯化过的腺病毒以每只小鼠 5×10^9 - 1×10^{10} 个病毒颗粒数注射,例如纯化腺病毒的滴度为 1×10^{11} PFU/mL,则每只小鼠所需的病毒原液体积为50~100 μ L。具体的注射量需要进行实验摸索。

注:a.小鼠尾静脉注射体积一般固定为100 μ L,最多不要超过200 μ L。注射剂量过多,小鼠容易发生充血性心衰。

获取动物注射视频, 关注汉恒生物公众号: 菜单栏——资源中心——实验视频



图3 实验视频指南

腺病毒使用的FAQ

1 腺病毒如何稀释?

用常规目的细胞培养用的无血清培养基、生理盐水、Hanks液、PBS液等将腺病毒稀释到需要的滴度。如原病毒标记滴度为 1×10^{10} PFU/mL, 则取10 μ L病毒液加到90 μ L的培养基中, 即可得到 1×10^9 PFU/mL的病毒稀释液。

2 什么是MOI?

MOI, 复感染指数, 是指病毒对细胞的感染能力, MOI越高, 细胞越难被感染。通常把某株细胞有80%被感染时所用的病毒颗粒数和细胞数目的比值作为该株细胞的MOI。

相关计算公式: 每孔加病毒量 (μ L) = MOI \times 细胞数 / 病毒滴度 (PFU/mL) \times 1000

MOI = (病毒滴度 \times 病毒体积) / 细胞数目

3 如何确定向细胞中加入腺病毒的最佳时间?

腺病毒感染细胞后需要36-48h观察到腺病毒携带的基因表达, 应在细胞汇合度30-50%且细胞

4 用于腺病毒感染的细胞接种量是多少?

根据细胞大小和增殖的速度调整细胞接种量, 以保证在感染后2天左右细胞刚好快长满培养皿底部为宜。

针对大部分细胞系: 传代周期在2-3天, 感染时细胞铺板的密度保持在30-50%左右, 则细胞增殖48h后细胞汇合度约在90%左右;

针对某些原代细胞: 由于细胞增长缓慢, 可以在接种时提高汇合度到50-60%左右, 但要确在感染后2天时细胞汇合度达到90-100%;

针对非分裂细胞: 如神经元细胞, 接种后不再增殖, 此时可以按照100%的汇合度进行接种。

5 腺病毒感染细胞后多久基因表达到达峰值?

腺病毒感染后大部分细胞会在36-48h左右GFP或目的基因表达达到峰值, 但是对于生长缓慢的细胞, 达到峰值的时间会更长。

6 对照病毒或目的病毒感染细胞以后, 细胞形态发生改变或者细胞死亡?

首先, 确定病毒是否有污染;

- ① 细菌污染, 毒用Millipore 0.22 μ m过滤器过滤去除细菌;
- ② 真菌污染, 病毒直接丢弃;
- ③ 支原体污染, 可使用汉恒抗支原体试剂;
- ④ 细胞碎片, 感染后换液几次去除细胞碎片;

其次, 确定病毒感染MOI是否过高, 调整MOI值, 并在感染后的4h、8h对细胞进行观察, 若发现细胞状态变差时, 则需要使用新鲜的完全培养液替换病毒感染培养液;

排除以上因素后细胞状态仍然不好, 尝试增加血清含量, 观察细胞状态是否好转。

7 如何提高腺病毒对细胞的感染效率?

腺病毒对细胞的感染效率受多个因素影响, 如病毒活性、细胞自身的状态、MOI值、感染时间等。

- ① 病毒活性, 解冻病毒一定要在冰上进行, 尽量避免反复冻融。-80 $^{\circ}$ C保存半年以上需要重新测滴度;
- ② 目的细胞, 先进行预实验测试, 看病毒载体是否合适感染目的细胞。对于悬浮细胞, 可采用平角离心感染的方法, 减少病毒感染时的体积, 从而提升感染的效率;
- ③ MOI值, 进行MOI梯度摸索实验, 找出最优的MOI浓度;
- ④ 感染时间, 腺病毒一般在感染后8-16h换液, 太早换液会导致感染效率下降; 换液太晚, 则对细胞的损伤太大。如细胞状态比较好, 可适当延长换液时间来进一步提高感染效率。

8 为什么过表达腺病毒比对照的荧光要暗?

每种病毒有自己的载体容量,基因的插入会影响位于其下游的荧光蛋白等基因的表达。

对照病毒或干扰病毒,由于没有插入基因或者插入基因非常短,荧光通常较强。而插入了较长基因之后,荧光的亮度会随着插入基因的长度以及特殊结构的存在等而减弱,尤其是出现高GC片段,由于影响了转录,荧光强度会大大降低。

9 细胞能被腺病毒感染,但为何GFP荧光很弱?

GFP腺病毒感染细胞后,荧光强度取决于病毒进入到细胞的颗粒数、细胞本身的增殖状态、细胞类型、观察时间、GFP前面的启动子活性等因素。

GFP基因荧光表达的强度与启动子的活性、目的细胞感染的病毒颗粒数呈正相关。腺病毒在增殖较快的细胞中感染36-48h后,GFP蛋白表达才达到峰值;在增殖较慢的细胞中,GFP蛋白表达到达峰值需要更久。GFP基因接在强启动子后面时荧光表达较强,弱启动子则荧光表达较弱。

10 要曝光很长时间才能观察到荧光?

可能的原因有:

- ① 显微镜汞灯使用时间长,可以通过对照病毒排除,若对照较亮可排除显微镜问题;
- ② pH值低,看培养基是否发黄,pH值较低会导致绿色荧光淬灭;
- ③ 目的病毒光不亮,插入目的基因后的病毒荧光强度会相对对照弱一些,属于正常现象,可加长曝光时间。

11 在进行基因表达验证时,QPCR有效果,但是WB效果不好?

QPCR有效,WB检测没有过表达的可能原因有:

- ① 检测标签表达,确认标签是否表达,若标签是外源性的,则更容易检测到;
- ② WB直接检测目的蛋白,受到抗体的质量(包括抗体有效性和灵敏度)操作等影响较大。

另外,如果基因翻译受阻,或者出现代偿性上升/下调等都会导致WB检测不到。

12 为什么做WB用flag检测有过表达,用目的蛋白的抗体检测没有过表达?

这种情况存在以下几种可能:

- ① 两种抗体灵敏度不同;
- ② 过表达量被本底表达掩盖,基因在细胞中本身有较高的内源性表达量,过表达之后用目的蛋白抗体WB检测到的条带比本底的浓度只高一点,因此并不明显,如果上样浓度有差异就会被掩盖。而flag抗体是有或无的区别,因此能明显看出差别;
- ③ ORF出现突变或移码,表达的不是目的蛋白。可通过检查测序结果和对照flag抗体做出的条带大小来初步排除。测序结果没有突变,而flag检测到的蛋白和理论大小差不多,证明ORF能正常翻译,出现移码的可能性不大;
- ④ 基因有多个转录本,目的蛋白抗体只能检测到其中某一种或几种表达形式,可以查看一下抗体的抗原表位,

理论上是否能结合。

13 RNA干扰无效果是什么原因?有什么解决办法吗?

1、确认感染效率:

干扰与过表达不同,干扰的效率很大程度上决定于感染效率(假设siRNA的下调效率是80%,但只有50%的细胞感染上,那整体水平上来说,至多只有40%的下调效率)。

2、确认QPCR数据:

- ① 检查QPCR引物是否有问题,我们设计siRNA的位置主要在CDS区,最好用CDS区的引物来检测,比对一下种属基因是否正确;
- ② 查看溶解曲线峰图,是否平滑,是否有杂峰,是否峰值在80°C以下,如有以上情况可能PCR结果不准确;
- ③ 查看CT值,复孔之间是否均一,干扰对复孔的均一性要求很高,如复孔间误差超过1,计算后就会造成50%左右的下调误差。除复孔均一性外,也要注意CT值大小,有些基因内源性表达极低,CT值接近或超过30,这种低表达的基因再进行下调,本身意义不大,建议更换靶细胞。

14 siRNA下调效果很好,但是包装成shRNA病毒后,下调效果变差?

siRNA和shRNA在结构上是不一样的,siRNA为化学合成,使用浓度一般为5 μ M,浓度较高,瞬时转染时如细胞转染效率尚可,瞬时进入细胞中的分子数超过10⁸,且不需要经过剪切加工就可和靶点结合,干扰效率高。

shRNA则是将干扰基因克隆到DNA上,经过病毒整合(慢病毒)或非整合(腺病毒,腺相关病毒)进入到细胞后,转录形成发夹RNA,再经过一系列酶的剪切加工,才形成可以和靶点结合的干扰RNA。这个过程中因为拷贝数低(如慢病毒需要整合基因组),转录加工过程复杂,会导致干扰效果不理想。

另外,单从碱基数上来说,siRNA一般为19nt,shRNA一般长度为21nt或25nt,所以有效的siRNA,往往有可能会并不合适做成shRNA的情况。

15 腺病毒感染之后多久可以检测?

腺病毒感染细胞一般36-48h可以检测表达,腺病毒做动物实验一般96h可以检测表达。

附1:腺病毒MOI感染参数

注:不同实验室由于细胞的来源、代数 and 细胞状态等因素的影响, MOI值也略有差异, 以下数据是在细胞感染效率在85-100%细胞状态良好的情况下获得的, 仅供参考。

细胞系	细胞描述	MOI值范围
THP-1	人单核细胞株	100-200
HCC827	人肺腺癌细胞	150-300
A549	人肺腺癌细胞	50-150
BEAS-2B	人肺正常上皮细胞	10-250
Hep G2	人肝癌细胞	30-200
L02	人肝细胞	10-100
SMMC-7721	人肝癌细胞	50-200
Huh-7	人肝癌细胞系	10-200
LX2	人肝星形细胞	30-100
HSC-T6	大鼠肝星形细胞	80-100
Hep-2	人喉癌细胞株	>100
HL-60	人急性髓系白血病细胞株	100-200
Jurkat	人T淋巴细胞白血病细胞	100-1000
K562	人白血病细胞	200-1000
Raw264.7	小鼠单核巨噬细胞白血病细胞	250-350
HT-29	人结肠癌细胞	10-50
HCT-116	人结肠癌细胞	10-50
SW480	人结肠癌细胞株	10-50
SKOV-3	人卵巢癌细胞株	10-50
SH-SY5Y	人神经母细胞瘤细胞	50-400
U251	人脑胶质母细胞瘤	50-150
U87	人脑星型胶质母细胞瘤	50-150
NIT-1	小鼠胰岛素瘤β细胞	50-150
BV2	小鼠小胶质细胞	30-100

细胞系	细胞描述	MOI值范围
293T	人胚肾上皮细胞	20-100
PC-12	大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞	20-50
HUVEC	人脐静脉血管内皮细胞	20-100
PC-3	人前列腺癌细胞	10-50
MDA-MB-231	人乳腺癌细胞	50-100
MCF-7	人乳腺癌细胞株	30-200
Tca8113	人舌鳞状细胞癌	50-150
ARPE-19	人视网膜上皮细胞	5-20
AGS	人胃癌细胞	50-150
BGC-823	人胃癌细胞	300-500
SGC-7901	人胃癌细胞	50-150
MKN-28	人胃癌细胞株	50-150
BxPc-3	人胰腺癌细胞	10-50
Panc-1	人胰腺癌细胞	20-50
HCF	人心脏成纤维细胞	>300
CFs	小鼠心脏成纤维细胞	50-150
NRCFs	大鼠心肌成纤维细胞	30-100
NRCM	乳鼠心肌细胞(大鼠)	20-200
H9C2	大鼠心肌细胞	50-150
HL-1	小鼠心肌细胞	30-100
NPCs	大鼠髓核细胞	30-50
B16-F10	小鼠皮肤黑色素瘤细胞	450-550
rBMSCs	大鼠骨髓间充质干细胞	50-150
mBMSCs	小鼠骨髓间充质干细胞	200-350
CMECs	小鼠心脏微血管内皮细胞	150-250
HaCaT	人永生表皮细胞	20-100
HPASMCs	人主动脉平滑肌细胞	50-150

细胞系	细胞描述	MOI值范围
hAMSCs	人羊膜间充质干细胞	150-250
hUCMSCs	人脐带间充质干细胞	10-100
hPDLSCs	人牙周膜干细胞	30-100
HK-2	人近端肾小管上皮细胞	300-500
Chondrocytes	小鼠原代软骨细胞	300-400

附2:腺病毒滴度测定方法

重组腺病毒TCID50滴度检测

一、前言

本检测须做两组重复实验,两组实验可在同一天进行,也可在不同天进行。

二、材料

- 1、293A 细胞
- 2、DMEM完全培养基,含有5%的FBS
- 3、病毒样品

三、方法

- 1、培养293A 细胞,待细胞生长密度约为80-90%时,消化细胞并计数细胞量;
- 2、用含有5% FBS的 DMEM 培养液制备细胞悬液,每板需要11 mL 浓度为 1×10^5 /mL的细胞悬液;
- 3、按每孔100 μ L (即 1×10^4 个细胞)加入2个96孔板;
- 4、制备感染样品。

接种样品:

将96孔板中的11、12两列各加入100 μ L 5% FBS的 DMEM,做阴性对照;
依次加入96孔板中的A-H排,各加100 μ L 标记为8个连续梯度稀释的样品溶液;
盖上第一个板并在37°C CO₂培养箱中培养;
同样步骤操作第二块板;
盖上第二个板并在37°C CO₂培养箱中培养。

实验中培养板的结构如下图:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	1×10^6	No Virus Control	No Virus Control
B	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	1×10^7	No Virus Control	No Virus Control
C	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	1×10^8	No Virus Control	No Virus Control
D	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	1×10^9	No Virus Control	No Virus Control
E	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	1×10^{10}	No Virus Control	No Virus Control
F	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	1×10^{11}	No Virus Control	No Virus Control
G	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	1×10^{12}	No Virus Control	No Virus Control
H	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	1×10^{13}	No Virus Control	No Virus Control

注：样品稀释梯度可随具体情况调整

将96孔板置于37°C CO₂培养箱中培养10天，从第3天到第10天观察细胞状况。

第10天分析、记录CPE结果：

CPE应在10天之内出现。第10天在显微镜下观察每孔CPE情况，并与阴性对照的一排对比，记录每排样品的阳性孔数。

如有一个板被污染，实验必须重做。

病毒活性计算公式：

对于100 μL样品，滴度 $T = 10^{1+d(s-0.5)}$

$d = \log_{10}$ 稀释度 = 1 (对于10倍的稀释度而言)

s = 阳性比率之和 (从第一个10倍稀释度算起)

将TCID₅₀/mL转换成PFU/mL：

$T = a \times 10^b \text{TCID}_{50}/\text{mL} = a \times 10^{b-0.7} \text{PFU}/\text{mL}$

两次重复实验得到的滴度值应相差 $\leq 10^{0.7}$

滴度：

$$T = 10^{1+(10.5-0.5)} = 10^{11.0} \text{TCID}_{50}/100\text{uL}$$

将TCID₅₀/mL换算成PFU/mL

$$T = 10^{11.0-0.7}/100\text{uL} = 10^{10.3}/100\text{uL} = 1.99 \times 10^{10} \text{PFU}/100\text{uL} = 1.99 \times 10^{11} \text{PFU}/\text{mL}$$

四、注意事项

稀释病毒液时要充分混匀。

每次吸病毒液时要更换Tip头，以防导致稀释不准确。

以Ad-GFP滴度测定为例：

测定结果为 $1.99 \times 10^{11} \text{PFU}/\text{mL}$

稀释度	阳性比率
10 ⁻⁶	10/10=1
10 ⁻⁷	10/10=1
10 ⁻⁸	10/10=1
10 ⁻⁹	10/10=1
10 ⁻¹⁰	10/10=1
10 ⁻¹¹	5/10=0.5
10 ⁻¹²	0/10=0
10 ⁻¹³	0/10=0