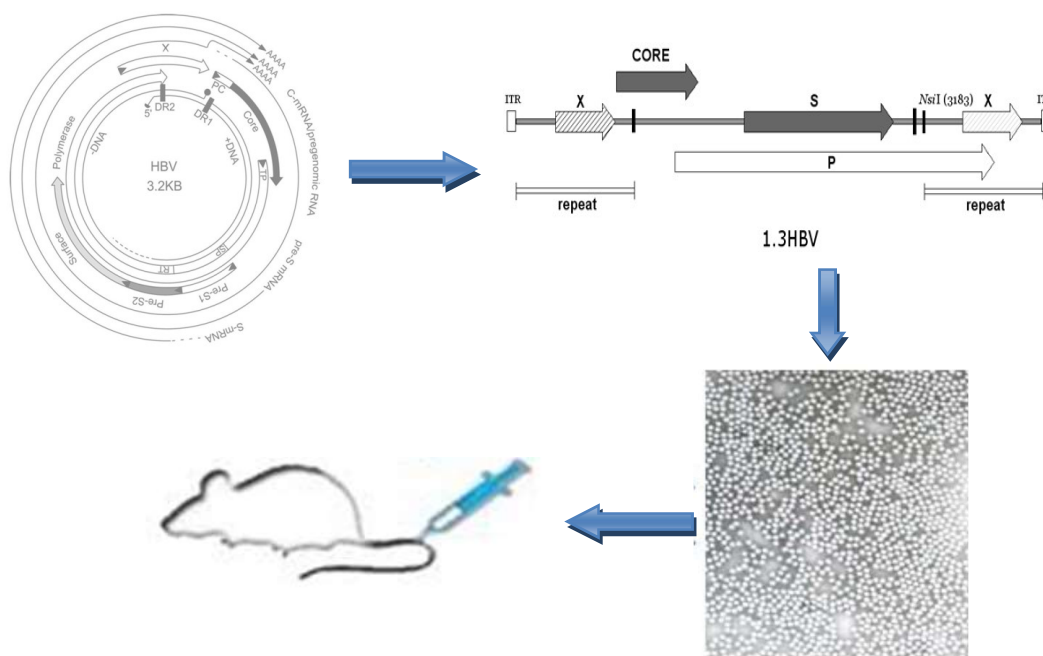


rAAV8-1.3HBV 产品说明书

1 产品介绍

2010 年董小岩博士等^[1]首次报道了 rAAV8-1.3HBV 可以用于高效制备 HBV 持续性感染的小鼠模型，它是一种携带 1.3 拷贝 HBV 全长基因组的重组 AAV8 病毒，包含的 HBV 基因为 D 型(ayw 血清型, GenBank accession number: KX470733)或 C 型 (adr 血清型, GenBank accession number: KX449554)。该产品巧妙结合了含重复区的 HBV 基因组可在小鼠肝脏中复制的特点以及 AAV8 嗜肝细胞的特性，通过向小鼠尾部静脉注射 rAAV8-1.3HBV，能够建立 HBV 慢性感染模型，在小鼠血液和肝脏中持续检测到 HBV DNA、HBeAg 和 HBsAg 的表达。本产品也可应用于其他动物，在 HBV 药物筛查、药效评价、疫苗效果评价和基础研究领域有广泛应用。

2 产品原理及应用



rAAV8-1.3HBV 病毒电镜图

3 产品类型

货号	产品名称	包装规格
AMV-001	rAAV8-1.3HBV adr	1E+12vg
AMV-001-1		1E+11vg
AMV-001-2		5E+11vg
AMV-001-3		5E+12vg
AMV-001-4		1E+13vg
AMV-002	rAAV8-1.3HBV ayw	1E+12vg
AMV-002-1		1E+11vg
AMV-002-2		5E+11vg
AMV-002-3		5E+12vg
AMV-002-4		1E+13vg

(表格内病毒滴度均为 1E+12vg/mL，不同的包装规格表示体积不同)

4 质检项目

病毒滴度：点杂交检测滴度为 1×10^{12} vg/mL

Q-PCR 检测滴度，报告实测值

纯度：SDS-PAGE 显示 AAV8 三条特征条带清晰，纯度 $\geq 85\%$

蛋白含量：BCA 方法检测，报告实测值。

（具体检测结果见产品质检报告）

5 产品保存

保存液：无菌 FF5，pH 7.2~7.4。

保存条件： $\leq -70^\circ\text{C}$ ，分装保存，避免反复冻融。

生产批号：见标签。

保质期：三年。

6 使用注意

- ✓ 本产品仅限科研使用。
- ✓ rAAV8-1.3HBV 病毒产品对人和哺乳动物均具有潜在感染性和致病性，需在 BSL-2 实验室和 ABSL-2 级动物实验室进行相关实验操作。操作人员应该接种过乙型肝炎疫苗，具有乙型肝炎保护性免疫反应，并需经过专业的生物安全培训，获得生物安全培训合格证方可进行实验操作。废弃物的处理严格按照 BSL-2 实验室管理要求进行。
- ✓ 产品在实验动物体内的 HBV 相关检测指标的表达水平与实验动物种类、品系、免疫状态等因素有关。
- ✓ 生物制品尤其是病毒制品的定量结果有较大的变异，不同批次产品的实际滴度会有一些的差异。由于产品开发初期用点杂交方法进行滴度检测，为保证质量标准的一致性，目前我们的产品仍然沿用点杂交滴度结果（结果变异范围为 $\pm 50\%$ ）作为产品的放行标准。从 2018 年 11 月份开始，在检测报告上加入 Q-PCR 方法（结果变异范围为 $\pm 30\%$ ）的滴度检测结果，供客户参考。
- ✓ 对小鼠造模数据的一致性要求很高的客户，为了降低产品的批间差异对实验结果的影响，建议客户：①在大量动物实验前进行动物的预实验。单次采购量大于等于 5 支，我们免费提供 0.5mL 的产品用于动物预实验；单次订购量小于 5 支，我们免费提供 20 μ L 的产品用于病毒滴度检测。②订购同一批次的病毒或告知我们预留同批次病毒备用。
- ✓ AAV8 在体外对细胞的感染效率很低，不建议客户将本产品用于细胞学实验，如需进行细胞实验，建议购买相应的 AAVDJ 产品 AMV-005 rAAVDJ-1.3HBV adr（C 型）和 AMV-006 rAAVDJ-1.3HBV ayw（D 型）。

7 使用方法

实验动物：已发表的数据^[1-22]表明本产品可在 C57BL/6 小鼠、Balb/C 小鼠、大鼠以及树鼯中建立 HBV 感染模型，但在不同动物中的 HBV DNA 和相关抗原抗体的表达水平有较大差异，其中 C57BL/6 小鼠为最常用实验动物。

给药方式：尾静脉注射。

剂量：4~6 周 C57BL/6 小鼠推荐用量为 1×10^{11} vg/只（基于点杂交结果的推荐用量），建议注射体积为 200 μ L，可用无菌 PBS 或病毒保存液 FF5 于使用前稀释（注意：切勿稀释后保存）。由于不同研究者对模型动物的要求各异，为获得最佳实验结果，建议研究者先进行不同剂量的预实验，根据预实验结果确定最佳使用剂量。

8 相关产品

货号	产品名称	包装规格
AMV-005	rAAVDJ-1.3HBV adr	1E+12vg
AMV-006	rAAVDJ-1.3HBV ayw	1E+12vg
FF5-001	AAV 病毒保存液 FF5	1mL
定制服务	其他基因型的 rAAV-1.3HBV 产品	定制

参考文献

- 董小岩等, 高嗜肝性 8 型重组腺相关病毒体内转导法制备乙型肝炎病毒持续感染小鼠模型. 2010. 病毒学报, 26(06): 425-431.
- 郭燕菊等, 免疫抑制剂地塞米松可明显延长乙型肝炎病毒抗原在水动力法转染 HBV 小鼠模型中的表达. 2010. 病毒学报, 26(01): 20-26
- 王刚等, 用 rAAV8-1.3HBV 制备两种品系小鼠乙型肝炎病毒感染模型的比较研究. 2012. 病毒学报, 28(05): 541-547
- 朱欣瑶等, 比较不同血清型 AAV 携带 HBV 基因组建立乙肝小鼠模型效果. 2012. 生物工程学报, 28(1):1-9.
- 王国婧等, 用重组 8 型腺相关病毒载体介导的乙型肝炎病毒持续感染小鼠模型评价核苷类似物的抗病毒效果. 2013. 生物工程学报, 29(01): 95-106.
- 曾扬等, 重组 8 型腺相关病毒介导 HBV 急性感染树鼯模型建立. 中国实验动物学报, 2013, 21(03): 36-41.
- Bian Y, Zhang Z, Sun Z, Zhao J, Zhu D, Wang Y, Fu S, Guo J, Liu L, Su L, Wang FS, Fu YX, Peng H. 2017. Vaccines targeting preS1 domain overcome immune tolerance in hepatitis B virus carrier mice. Hepatology **66**:1067-1082.
- Dion S, Bourguine M, Godon O, Levillayer F, Michel ML. 2013. Adeno-associated virus-mediated gene transfer leads to persistent hepatitis B virus replication in mice expressing HLA-A2 and HLA-DR1 molecules. Journal of virology **87**:5554-5563.
- Kong X, Sun R, Chen Y, Wei H, Tian Z. 2014. gammadeltaT cells drive myeloid-derived suppressor cell-mediated CD8+ T cell exhaustion in hepatitis B virus-induced immunotolerance. J Immunol **193**:1645-1653.
- Wang Z, Zhu K, Bai W, Jia B, Hu H, Zhou D, Zhang X, Xie Y, Bourguine MM, Michel ML, Lan K, Deng Q. 2014. Adenoviral delivery of recombinant hepatitis B virus expressing foreign antigenic epitopes for immunotherapy of persistent viral infection. Journal of virology **88**:3004-3015.
- Yang D, Liu L, Zhu D, Peng H, Su L, Fu YX, Zhang L. 2014. A mouse model for HBV immunotolerance and immunotherapy. Cellular & molecular immunology **11**:71-78.
- Cheng L, Li F, Bility MT, Murphy CM, Su L. 2015. Modeling hepatitis B virus infection, immunopathology and therapy in mice. Antiviral research **121**:1-8.
- Dai K, Huang L, Chen J, Yang L, Gong Z. 2015. Amphiregulin promotes the immunosuppressive activity of intrahepatic CD4(+) regulatory T cells to impair CD8(+) T-cell immunity against hepatitis B virus infection. Immunology **144**:506-517.
- Dai K, Huang L, Sun X, Yang L, Gong Z. 2015. Hepatic CD206-positive macrophages express amphiregulin to promote the immunosuppressive activity of regulatory T cells in HBV infection. Journal of leukocyte biology **98**:1071-1080.
- Li J, Zong L, Sureau C, Barker L, Wands JR, Tong S. 2016. Unusual Features of Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide as a Hepatitis B Virus Receptor. Journal of virology **90**:8302-8313.
- Zhu D, Liu L, Yang D, Fu S, Bian Y, Sun Z, He J, Su L, Zhang L, Peng H, Fu YX. 2016. Clearing Persistent Extracellular Antigen of Hepatitis B Virus: An Immunomodulatory Strategy To Reverse Tolerance for an Effective Therapeutic Vaccination. J Immunol **196**:3079-3087.
- Zhu W, Xie K, Xu Y, Wang L, Chen K, Zhang L, Fang J. 2016. CRISPR/Cas9 produces anti-hepatitis B virus effect in hepatoma cells and transgenic mouse. Virus research **217**:125-132.
- 杨悦等, 中国流行株 C 基因型 HBV 稳定复制表达小鼠模型的建立. 2016. 解放军医学, 41(10): 793-797.

19. **Zhao W, Zhou X, Zhao G, Lin Q, Wang X, Yu X, Wang B.** 2017. Enrichment of Ly6C(hi) monocytes by multiple GM-CSF injections with HBV vaccine contributes to viral clearance in a HBV mouse model. *Human vaccines & immunotherapeutics* **13**:2872-2882.
20. **Javanbakht H, Mueller H, Walther J, Zhou X, Lopez A, Pattupara T, Blaising J, Pedersen L, Albaek N, Jackerott M, Shi T, Ploix C, Driessen W, Persson R, Ravn J, Young JAT, Ottosen S.** 2018. Liver-Targeted Anti-HBV Single-Stranded Oligonucleotides with Locked Nucleic Acid Potently Reduce HBV Gene Expression In Vivo. *Molecular therapy. Nucleic acids* **11**:441-454.
21. **Liu Y, Yao W, Si L, Hou J, Wang J, Xu Z, Li W, Chen J, Li R, Li P, Bo L, Xiao X, Lan J, Xu D.** 2018. Chinese herbal extract Suxing had potent inhibitory effects on both wild-type and entecavir-resistant hepatitis B virus (HBV) in vitro and effectively suppressed HBV replication in mouse model. *Antiviral research* **155**:39-47.
22. **Tang L, Chen C, Gao X, Zhang W, Yan X, Zhou Y, Guo L, Zheng X, Wang W, Yang F, Liu G, Sun J, Hou J, Li Y.** 2018. Interleukin-21 Reinvigorates the Antiviral Activity of Hepatitis B Virus (HBV)-Specific CD8+ T Cells in Chronic HBV Infection. *The Journal of infectious diseases*. doi: 10.1093/infdis/jiy576.