

## 如何做好病毒空斑实验

如何做好病毒空斑实验？

以乙型脑炎病毒感染 BHK-21 细胞为例

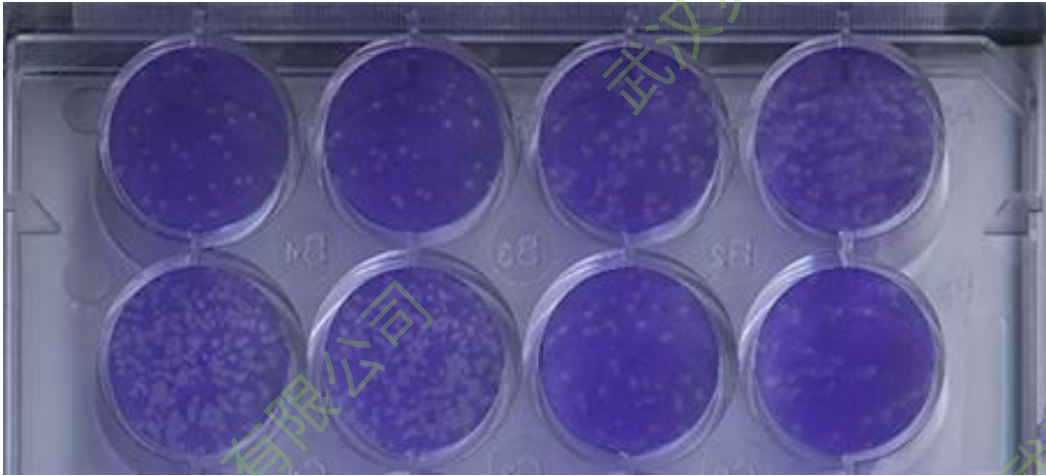
### 第一步：溶液配制

1、2%羧甲基纤维素钠覆盖培养基：先取 4g 粉状羧甲基纤维素钠溶于 100ml 蒸馏水，高温高压灭菌，再放入冰箱。使用前无菌操作按 1: 1 比例加入 2 倍 DMEM 培养基（含有 2%FBS 和 1%双抗），混匀放入冰箱，过一天后再拿出，反复摇匀，使纤维素达到一种匀质的状态，静置至泡沫完全消失后使用。

2、结晶紫：取 0.34g 粉剂加到 15ml 95% 医用酒精中，溶解后再用蒸馏水定溶到 100ml。

### 第二步：空斑实验

- 1、BHK-21 细胞培养；
- 2、对 BHK-21 细胞进行计数，按一定比例接入 24 孔板；
- 3、24h 后，弃培养液，用 PBS 洗两次；
- 4、接种乙型脑炎病毒：接种病毒液 0.1ml/孔，病毒液按 10 倍梯度稀释，可以做重复；
- 5、放入 37 度 5%CO<sub>2</sub> 培养箱 1h，期间每 15min 慢摇一次，使病毒充分吸附；
- 6、弃病毒液，用 PBS 洗涤细胞三次。加入 2%羧甲基纤维素钠覆盖培养基（1ml/孔），放入 37 度 5%CO<sub>2</sub> 培养箱继续培养；
- 7、3 天后，吸弃培养基；
- 8、加入 5%甲醛 1ml/孔固定 4min，弃甲醛，加入结晶紫 0.8ml/孔染色 20min；
- 9、蒸馏水缓缓冲洗染液，计算空斑数。



**注意事项:** 2%羧甲基纤维素钠覆盖培养基在配制过程中一定要充分摇匀; 病毒吸附后一定要洗涤, 以防后期空斑数不准确; 接毒后的细胞培养时间不同病毒会有不同, 按实际情况来处理; 避免多次观察细胞培养板, 会很容易造成病毒移位, 空斑变大。

如对实验有任何疑问, 可点击网页右边 qq 咨询, 会有专业的指导老师进行解答!

咨询电话: 18171096640

邮箱: market@lingsibio.cn

网址: www.lingsibio.cn

公司地址: 武汉市东湖新技术开发区花城大道 8 号光谷智慧健康园 D2 栋 4 层