

冠状病毒-药物筛选与评价服务

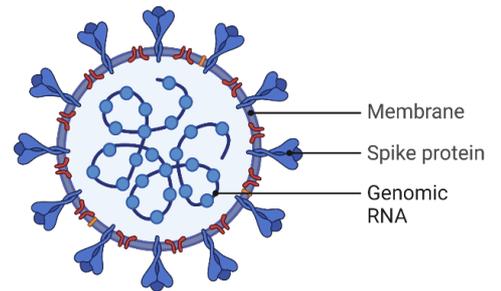
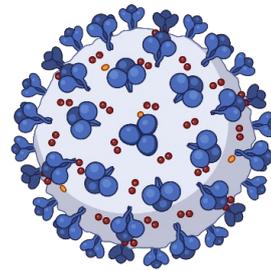
ReporterVision系统与VSV假病毒，
助力临床前药物研发

Introduction

引言

冠状病毒是一类可感染哺乳动物与鸟类的病毒，属于网巢病毒目冠状病毒科，为具有包膜的正单链RNA病毒。最早发现的冠状病毒为1920年代感染鸡只的传染性支气管炎病毒（IBV），1960年代始发现造成人类普通感冒的冠状病毒，而冠状病毒之名则是在1968年发表，得名自其表面的棒状突起（刺突）。

SARS-CoV-2作为RNA病毒具有较强的变异能力，SARS-CoV-2感染主要是由病毒刺突蛋白（spike protein, S蛋白）的S1亚基与血管紧张素转化酶2（ACE2）结合引起的内吞过程^[1]。多种药物的研发阻止病毒感染不同阶段，作用于病毒靶标，包括RdRp抑制剂瑞德西韦（remdesivir）和阿兹夫定（azvudine, FNC）、3C样蛋白酶抑制剂Nirmatrelvir、解旋酶抑制剂、结构蛋白抑制剂hexamethylene amiloride（HMA）等。潜在的作用于宿主靶标的抑制剂，包括跨膜丝氨酸蛋白酶2抑制剂TMPRSS2、弗林蛋白酶抑制剂等。



DIFF Coronavirus Pharmacodynamics EVAL Solution

DIFF 冠状病毒药效评价解决方案



药物—药效学评价

- ✓ 蛋白酶抑制剂筛选平台
 - 3CLpro; PLpro
- ✓ VSV复制型假病毒
 - 假病毒抑制实验（S蛋白靶点药物）
 - 攻毒保护实验
 - 存活率&体重
 - 病毒载量&活体成像
 - 组织病理切片

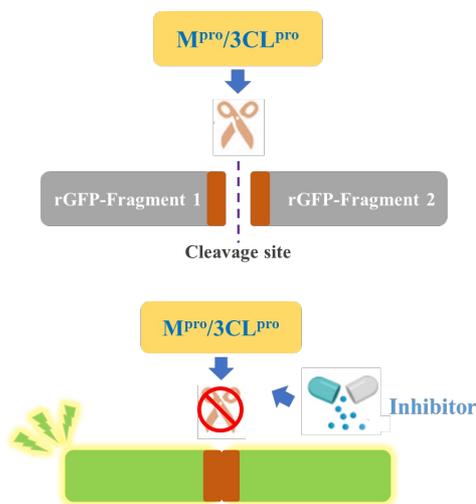


疫苗—药效学评价

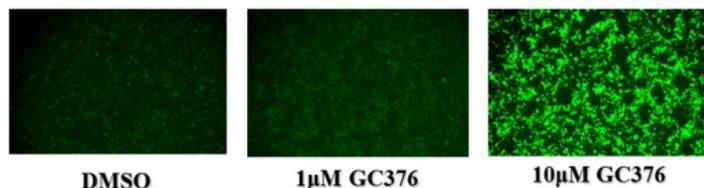
- ✓ 攻毒保护模型
 - 存活率&体重
 - 病毒载量&活体成像
 - 组织病理切片
- ✓ 免疫指标评价
 - 细胞免疫：ELISpot、流式（FACS\ICS）
 - 体液免疫：ELISA、血清中和抗体检测

DIFF ReporterVision Drug Screening System

蛋白酶抑制剂筛选系统介绍



蛋白酶抑制剂筛选系统原理图

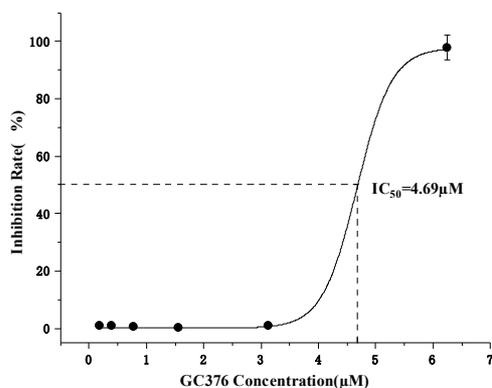


蛋白酶抑制剂筛选系统荧光强度图

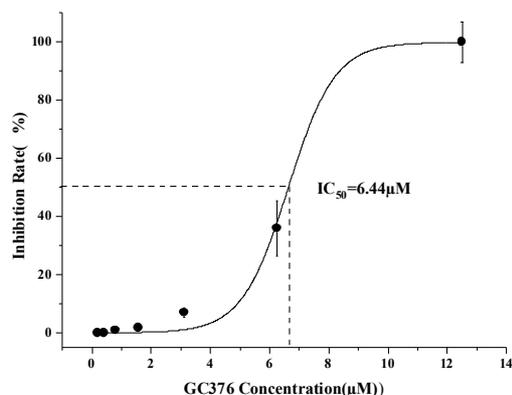
本检测系统基于特制质粒的共表达机制，结合重组绿色荧光蛋白（rGFP）和冠状病毒3CL蛋白酶。在该系统中，rGFP序列中嵌入了3CL蛋白酶的特异性切割位点。当3CL蛋白酶功能正常时，会特异性裂解rGFP，导致其荧光功能丧失，荧光强度减弱。相反，当抑制剂有效抑制了3CL蛋白酶的活性时，rGFP无法被切割，维持其完整性并正常发出荧光，荧光强度增强。通过测量荧光强度的变化，可以直观地评估抑制剂对新冠病毒3CL蛋白酶的抑制效果。

ReporterVision系统药效评价——定量分析

IC₅₀ Curve of GC376 Inhibition Determined by SARS-Cov-2



IC₅₀ Curve of GC376 Inhibition Measured by DIFF Assay Kit

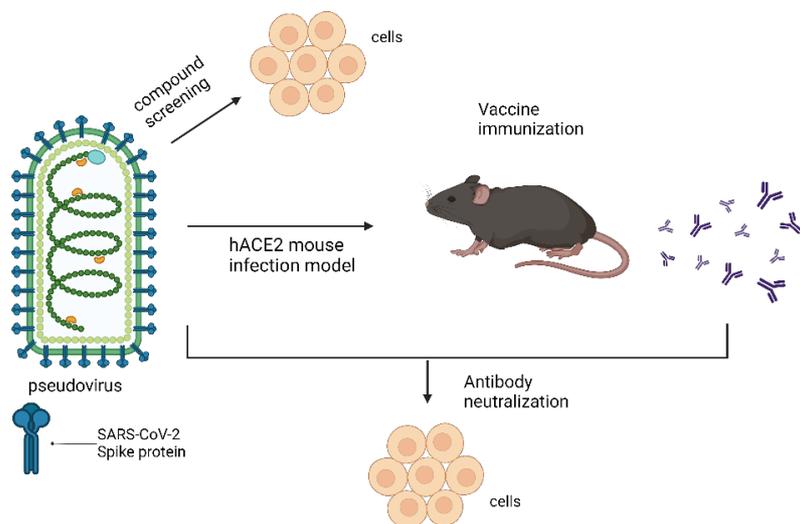


DIFF ReporterVision 荧光报告系统在细胞水平对药物效果进行评价，与活病毒检测方法对比，分别评估3CL蛋白酶抑制剂GC376的半数抑制浓度IC₅₀。结果显示：使用活病毒进行检测，GC376的IC₅₀值为4.69µM；而采用DIFF筛选系统，IC₅₀值为6.44µM。两种方法测得的IC₅₀值较为相近，证明了DIFF筛选系统评估药物效果的可靠性。

DIFF SARS-CoV-2 Pseudovirus

VSV-新冠假病毒介绍

迪福润丝研发团队构建的新冠假病毒，基于水疱性口角炎病毒（VSV）载体，融合了新冠病毒的S蛋白，成为研究SARS-CoV-2的有力工具。这种RNA囊膜病毒通过替换VSV的G蛋白并插入报告基因（如eGFP或Luciferase），模拟天然新冠病毒的结构和入侵细胞的机制。研发数据显示，VSV新冠假病毒能够有效感染hACE2表达的小鼠模型，同时保持高安全性，适合在BSL-2级别的实验室操作。它的表面蛋白结构类似于天然病毒，使其成为疫苗和药物研发的理想替代真病毒感染模型。该载体也适用于其他冠状病毒，可提供定制化的假病毒构建服务。



基于vsv载体假病毒在体外和体内应用示意图

VSV新冠假病毒——产品目录

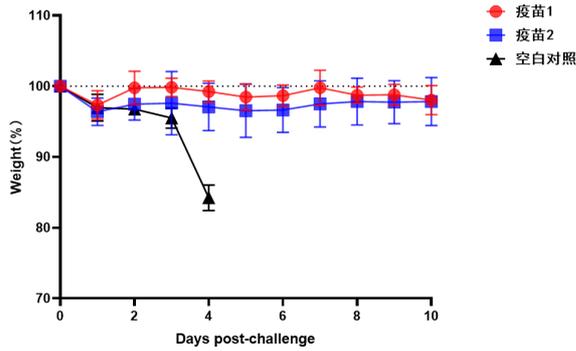
假病毒简称	对标新冠毒株	报告基因
DIFF1	原始株	eGFP
DIFF1L		Luciferase
DIFF2	Delta	eGFP
DIFF3	Beta	eGFP
DIFF4	Omicron-BA.1	eGFP
DIFF4L		Luciferase
DIFF5L	Omicron-BA.2	Luciferase
DIFF6	Omicron-BF.7	eGFP
DIFF7L	Omicron-BA.4	Luciferase
DIFF8	Omicron-XBB.1	eGFP
DIFF8L		Luciferase

1) 模拟攻毒实验

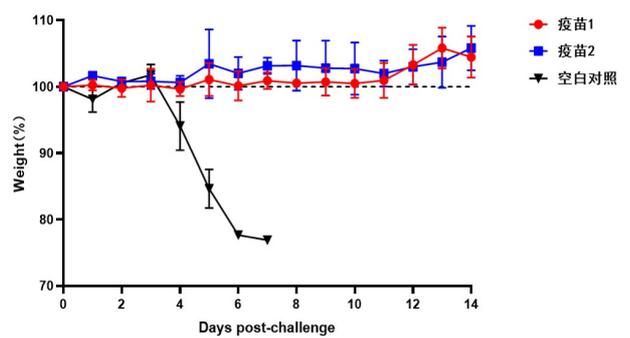
DIFF新冠假病毒技术可用来模拟感染实验，与新冠病毒SARS-CoV-2感染动物模型结果相似，结果可靠且重复性高。

表1 DIFF新冠假病毒与SARS-Cov-2病毒模拟攻毒实验对比

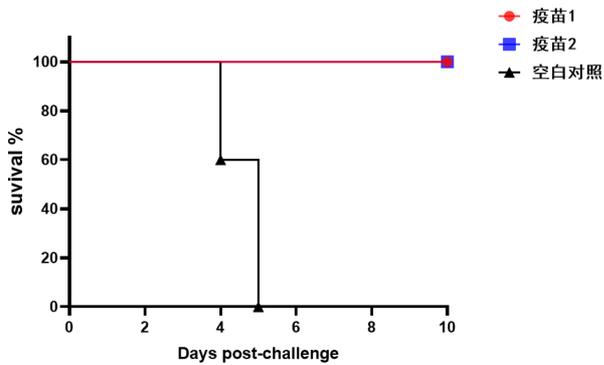
实验项目类型	DIFF假病毒	SARS-Cov-2病毒
实验室等级要求	BSL-2级	BSL-3级
预约周期	短	长
攻毒效果	致病表型高度一致	
实验成本	低	高
高通量筛选	适合	不适合



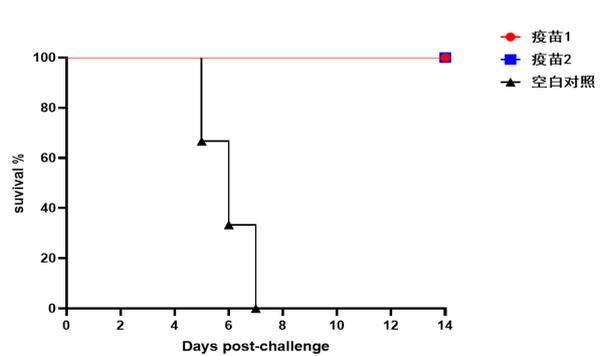
SARS-CoV-2真病毒感染模型 (小鼠体重变化)



DIFF 新冠假病毒感染模型 (小鼠体重变化)



SARS-CoV-2真病毒感染模型 (小鼠生存率)



DIFF 新冠假病毒感染模型 (小鼠生存率)

组图1 第三方机构与迪福润丝实验结果对比示意图

图注: DIFF新冠假病毒感染后, 空白小鼠3天后体重骤降, 5~7天均死亡。SARS-CoV-2感染后, 空白小鼠3天后体重骤降, 5天均死亡。两种病毒感染小鼠后, 免疫组/治疗组小鼠均存活且体重变化平稳。结果表明, DIFF新冠假病毒与SARS-CoV-2感染小鼠后具有一致的表现, 这表明该DIFF新冠假病毒感染模型是BSL-2条件下SARS-CoV-2感染的可替代模型。

2) 血清中和抗体检测

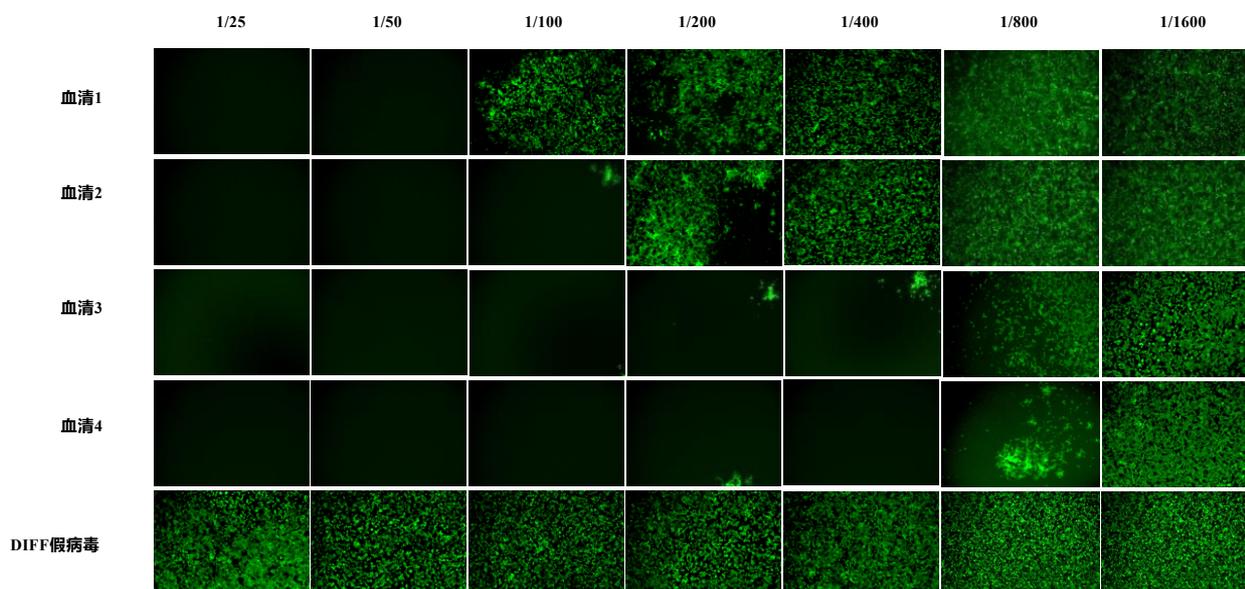
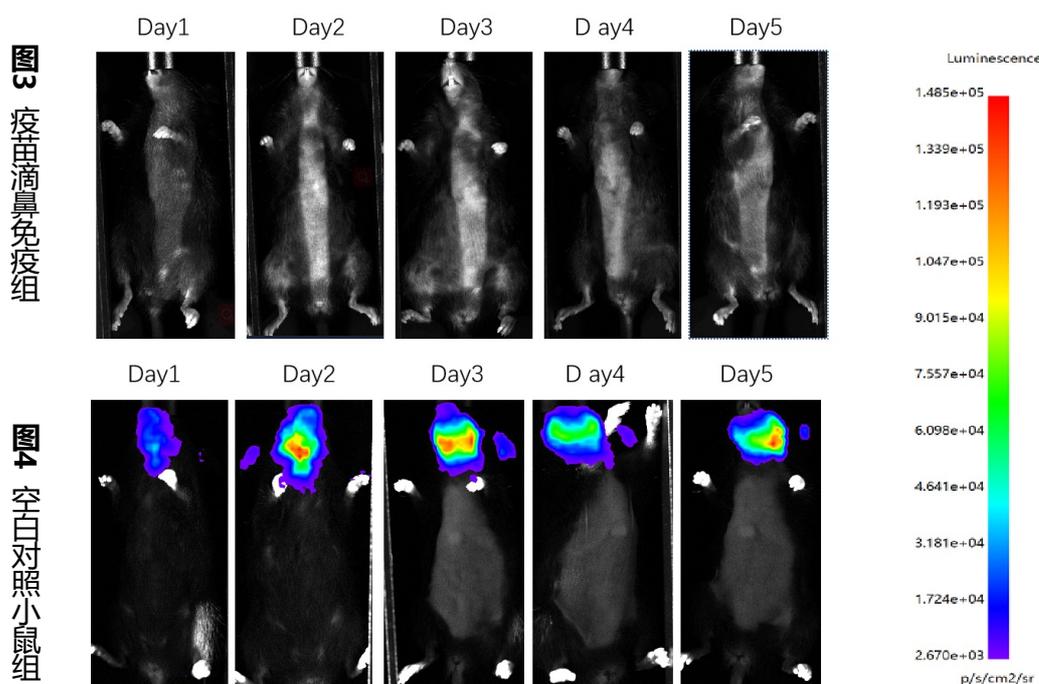


图2 DIFF新冠假病毒(eGFP系统)免疫血清中和实验

3) 活体成像

通过迪福润丝的活体成像技术进一步提高对药物反应的精准与灵敏性。该技术所用示踪病毒蛋白灵敏度高、成像速度快，可以直观的在动物活体上动态观察病毒去向，清晰的看到病毒复制效果，实现体外无法模拟的病毒真实感染情况，可大大减少实验动物用量，实现高通量药物筛选研究。同时在感染小鼠后，可以获取动物部分组织，对各组织器官内示踪病毒的组织分布进行有效评价。



图注：空白对照组小鼠感染新冠毒株后，第1天开始小鼠鼻部即有较高信号值，7天后小鼠死亡；免疫组小鼠接种滴鼻疫苗后第1~5天小鼠鼻部均无信号值，7天观察期无死亡。

Service Flow

卓越的服务体验



- ✓ **管理优势:** 建立科研服务项目制, 专人负责过程管控, 保障交付效果
- ✓ **技术优势:** 世界领先的重组病毒载体技术, 国内外发明专利50余项
- ✓ **质量保证:** 建立了符合ISO9000标准的质量管理体系, 数据真实可靠
- ✓ **服务理念:** 我们珍惜每一次合作的机会, 不会辜负您的信任。我们不是传统意义的委托和受托关系, 我们非常关切您的研究, 并利用自身行业丰富的专业经验为您赋能, 不仅交付可靠的结果, 还将给出建议, 陪伴您共同成长。我们对客户的数据安全和知识产权的保护负有保密的义务, 我们将恪尽职守, 专人办专事, 立志成为您最忠实的伙伴

Service Advantage

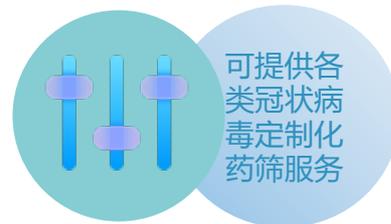
服务优势



真实可靠



正向筛选



定制化



活体成像



节约您的时间



一站式服务

为世界创造不同



迪福润丝生物 | DIFF Biotech

中国杭州 · 中国合肥 · 中国菏泽 · 新加坡

- 更多信息 -

联系电话 Tel: 0571-86076603
邮箱 E-mail: op@diff-biotech.com
网址 Web: www.diff-biotech.com
Skype: dfrs-public@outlook.com

- 公司地址 -

迪福润丝 (杭州) · 天和高科技产业园
迪福润丝 (合肥) & 百裕生物·国家健康大数据产业园
迪福奈斯 (菏泽) · 现代医药港中央商务区
迪福润丝 (新加坡) · 112 Robinson Rd, #03-01, Singapore, 068902



客服微信



微信公众号