

PRV 逆向跨多突触产品使用说明

产品信息

产品编号	产品名称	产品滴度	备注
BC-PRV-531	PRV-CAG-EGFP	$\geq 10^9$ PFU/mL	绿色逆向跨多级突触
BC-PRV-801	PRV-CAG-3Gc	$\geq 10^9$ PFU/mL	高亮绿色逆向跨多级突触
BC-PRV-803	PRV-CAG-3Ms	$\geq 10^9$ PFU/mL	高亮红色逆向跨多级突触
BC-PRV-805	PRV- Δ TK-DIO-mCherry	$\geq 10^9$ PFU/mL	Cre 依赖红色逆向跨多突触

概述

伪狂犬病病毒（Pseudorabies Virus, PRV）又称猪疱疹病毒I型，属于疱疹病毒科的 α -疱疹病毒亚科。PRV 毒株包括 Becker 和 Bartha 毒株，Bartha 菌株可特异性逆向跨突触传播且毒性较低。基因改造后的 Bartha 菌株常作为逆行跨多级突触的示踪剂，用于中枢与外周的神经环路示踪研究，尤其是从外周到中枢的输入网络[1]。

PRV 宿主范围广，包括牛、羊、猪、犬和猫等多种家畜和野生动物，适用于啮齿类等动物的神经环路研究。近年来有报道称，PRV 的几种变异体可能会感染人类中枢神经系统，诱发脑炎，因此 **PRV 需在生物安全二级实验室内开展实验**[2]。

PRV-Bartha 株作为经典神经示踪工具，通过基因工程改造在 PRV-Bartha 株骨架中插入 β -半乳糖苷酶、荧光蛋白等报告基因，成功构建了可使被感染细胞可视化的重组病毒，为神经环路研究提供了有力工具[3]。目前应用最广泛的有报告基因优化后的 PRV531 和 PRV724，以及由布林凯斯研发的新型高亮版 PRV：PRV-801 和 PRV-803，通过插入多个新型红色/绿色荧光蛋白拷贝，显著提升荧光表达量，成像效果更佳。

此外，布林凯斯推出的创新产品 PRV-805（PRV- Δ TK-DIO-mCherry）突破了传统 PRV 示踪技术的局限，其独特之处在于仅在表达 Cre 重组酶的神经元和与起始细胞有突触连接的神经元中进行特异性复制，并通过表达红色荧光蛋白实现对目标神经元输入信息的精准示踪[4]。这一技术有效解决了传统方法难以区分特定神经递质、神经肽或受体神经元输入信息的难题，为神经科学研究提供了从非特异性示踪到精准标记的完整解决方案。PRV-805 的出现实现了对特定类型神经元输入连接的特异性示踪，显著提升了神经环路研究的精度水平，将领域研究推向新的高度。

保存与操作方法

运输：使用干冰冷藏运输；

储存：收到病毒后，可直接放置-80℃保存，避免反复冻融，可稳定保存至少 1 年；

使用前，将嗜神经病毒置于冰水混合物中融解。根据实验需求，可用无菌 PBS 适当稀释。融解后病毒液可暂存 4°C，但建议当日用完。**避免反复冻融，以防滴度下降和感染效率降低。**

实验方案

	中枢	外周
病毒滴度	$10^8 \sim 10^9$ PFU/mL	$10^9 \sim 10^{10}$ PFU/mL
注射剂量	约 100~300 nL	约 1~3 μ L
注射方式	单点注射	多点注射，例 2-3 位点，800-1000nL/点
取材时间	约 2~3 天	约 4~5 天
实验小鼠	健康状况良好，8-10 周龄，体重大于 18 g	

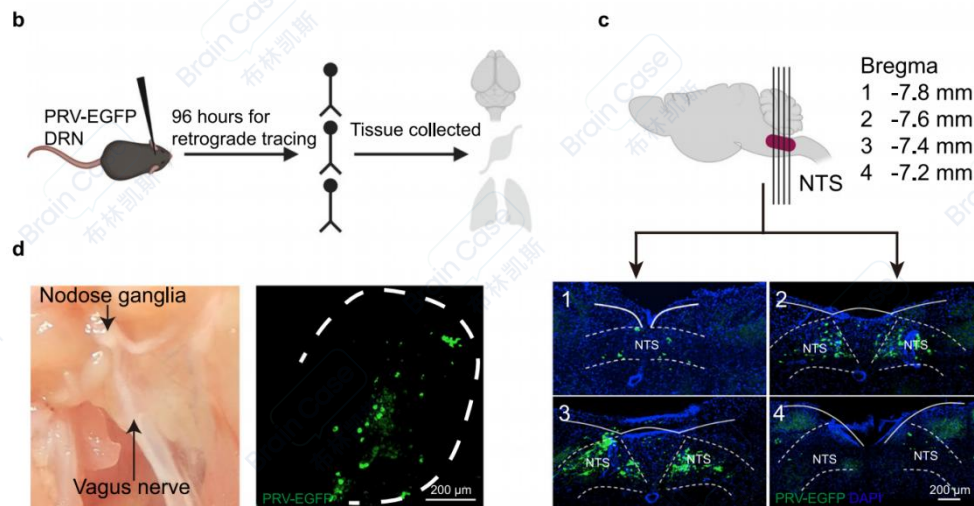
上表仅作为参考，实际依据注射位点、实验需求、动物状态等适当调整方案。

注意事项

1. 由于 PRV 病毒对动物机体有一定的毒性作用，建议选择成年且健康状况良好的动物开展实验，以便更高效地完成相关示踪研究；
2. 注射 PRV 病毒之后，大约 3-5 天左右小鼠会出现相应的症状，应定期监测小鼠状态，当出现蜷缩不动、抽搐、颤抖等症状时可进行灌流取材，濒死状态取材时 PRV 感染效果最佳；
3. 注射 PRV 病毒之后，小鼠出现症状的时间窗不易掌控，建议从注射后第 3 天增加监测小鼠的频率；
4. PRV 为逆向跨多突触病毒，动物实验时，可根据环路连接级数设定不同的取材时间。根据病毒生活周期推测其在中枢内的传播速度可能为 24-36h，跨一级突触；36-48h 跨两级突触；60-72h 跨三级突触或更多，所以应根据实验需求合理安排取样时间；
5. 活体实验中，若因表达时间较短等原因造成荧光信号较弱的情况，可通过免疫组化实验放大荧光信号。

应用举例

为了研究肺感觉传入神经如何将外周信号传递给 DRN 5-HT 神经元，将表达增强的绿色荧光蛋白的逆行跨突触病毒 PRV 注射到 DRN 区域，500nL/只，结果显示，小鼠 DRN 脑区神经元和神经纤维中产生明亮的 GFP 荧光，主要是 5-HT 神经元。在感染后 96 小时，PRV 从 DRN 逆向示踪到内侧前庭核、前置核、NTS、结节神经节和肺[5]。



原文链接: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-43150-0>

参考文献

- (1) Jin H, Zhang Y. T, et al. Electroacupuncture facilitates the integration of neural stem cell-derived neural network with transected rat spinal cord. *Stem Cell Reports*, 2019, 12, 274–289
- (2) Liu Q, Wu Y, Wang H, et al. Viral Tools for Neural Circuit Tracing. *Neuroscience Bulletin*, 2022: 1-11.
- (3) Fan Jia, Pei Lv, Huan Miao, et al. Optimization of the Fluorescent Protein Expression Level Based on Pseudorabies Virus Bartha Strain for Neural Circuit Tracing. *Front Neuroanat*, 2019, 13:63
- (4) DeFalco J, Tomishima M, Liu H, et al. Virus-assisted mapping of neural inputs to a feeding center in the hypothalamus. *Science*. 2001;291(5513):2608-2613.
- (5) Huang J, Huang W, Yi J, et al. Mesenchymal stromal cells alleviate depressive and anxiety-like behaviors via a lung vagal-to-brain axis in male mice. *Nat Commun*. 2023;14(1):7406.