



复百澳生物

AAV磁珠纯化试剂盒产品说明书



一站式病毒载体构建服务平台

复百澳(苏州)生物医药科技有限公司
FuBio (Su Zhou) Biotechnology Co., Ltd

| 产品名称

通用名称:AAV磁珠纯化试剂盒

| 产品规格

货 号:FBP2413

| 包装清单

产品名称	产品说明
磁珠	磁性高聚物微球
Buffer 1	洗涤液
Buffer 2	洗脱液
Buffer 3	中和液
Storing buffer	病毒存储液

| 产品储存

2-8°C冷藏保存,避免冻结。

| 产品概述

腺相关病毒(Adeno-Associated Virus, AAV)是Parvovirus科Dependovirus属的无包膜病毒,病毒颗粒直径18-26 nm,基因组大小约4.7 kb。血清型众多,不同血清型病毒间的宿主特异性和特点有所不同。重组AAV载体(rAAV)具有低致病性,对宿主免疫原性弱,长期稳定表达,广泛的细胞和组织亲嗜性等优点,经过工程改造后的重组腺相关病毒(rAAV)被视为最有前途的基因治疗载体,已成为体内输送基因疗法的主要平台。

AAV病毒颗粒的纯化通常使用碘克沙醇密度梯度离心,操作繁琐,耗时长且回收率低。AAV磁珠纯化试剂盒可以在大约1h完成病毒纯化,适用于多种血清型,操作简单、快速且纯化率高,纯化所得的病毒颗粒可直接用于下游实验。

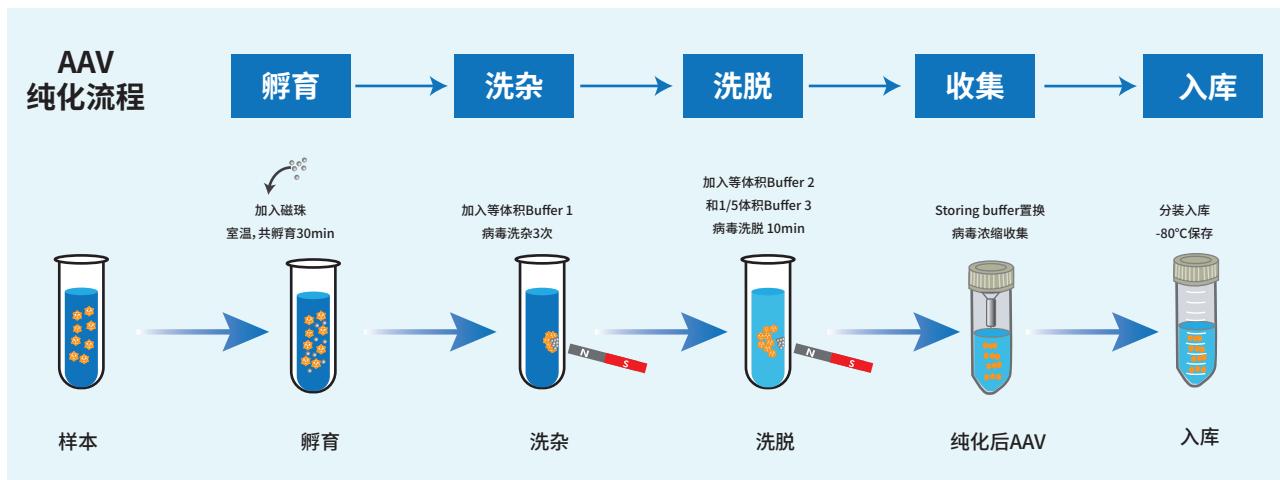
| 产品特点

- 1) **应用范围广:**适用于多种血清型(已针对8和9血清型进行了验证);
- 2) **操作简便:**无需进行超离心等繁琐操作,对仪器设备要求低;
- 3) **实验周期短:**整个纯化过程仅需1h即可搞定;
- 4) **磁珠载量大:**亲和磁珠结合载量可达^12vg/100μl。

| 实验材料(需要自备)

磁力架、滤膜、注射器、EP管、超滤浓缩管、细胞培养所需仪器耗材

| 操作流程



1、AAV病毒收集及粗纯(供参考)

- ① 收集病毒上清，用PEG沉降过夜，10000rpm离心30min，重悬沉淀；
- ② 收集包装细胞沉淀，冻融或研磨裂解细胞，高速离心后取上清；
- ③ 将①②的病毒上清混合，滤膜过滤去除细胞碎片等，粗纯样本完成，用于后续纯化或-80°C暂存。

2、清洗磁珠

取适量磁珠置于磁力架上静置1min (100ul磁珠结合约1E+12vg粗纯病毒)，吸去上清，加入3倍磁珠体积 Buffer 1吹打重悬，再将悬液置于磁力架上静置1min，弃上清，重复洗涤3次。

3、AAV样品孵育和洗杂

将粗纯AAV样本加到磁珠中，将悬液垂直混匀孵育30min，孵育结束后将离心管置于磁力架上，磁吸2min，将上清液转移到干净的离心管中留样。在离心管中加入与样本等体积的Buffer 1缓冲液进行清洗，充分吹打混匀后磁吸2min，弃去上清，此步骤重复3次，分管收集洗涤液，留样备检。

4、AAV样品洗脱

洗杂后的磁珠中加入与样本等体积的Buffer 2，垂直混匀洗脱10min，重复洗脱3次。洗脱后样本立即加Buffer 3，每1ml Buffer 2 加20ul Buffer 3 (样本颜色由黄色变为红色即为完成)，分管收集洗脱液，鉴定病毒颗粒量及纯度。

5、AAV病毒浓缩和buffer置换

将含有AAV病毒的洗脱液转移至超滤浓缩管(30KD)进行Storing buffer置换，并浓缩至所需体积；浓缩病毒使用0.22um滤膜过滤除菌，分装后置于-80°C条件下保存。

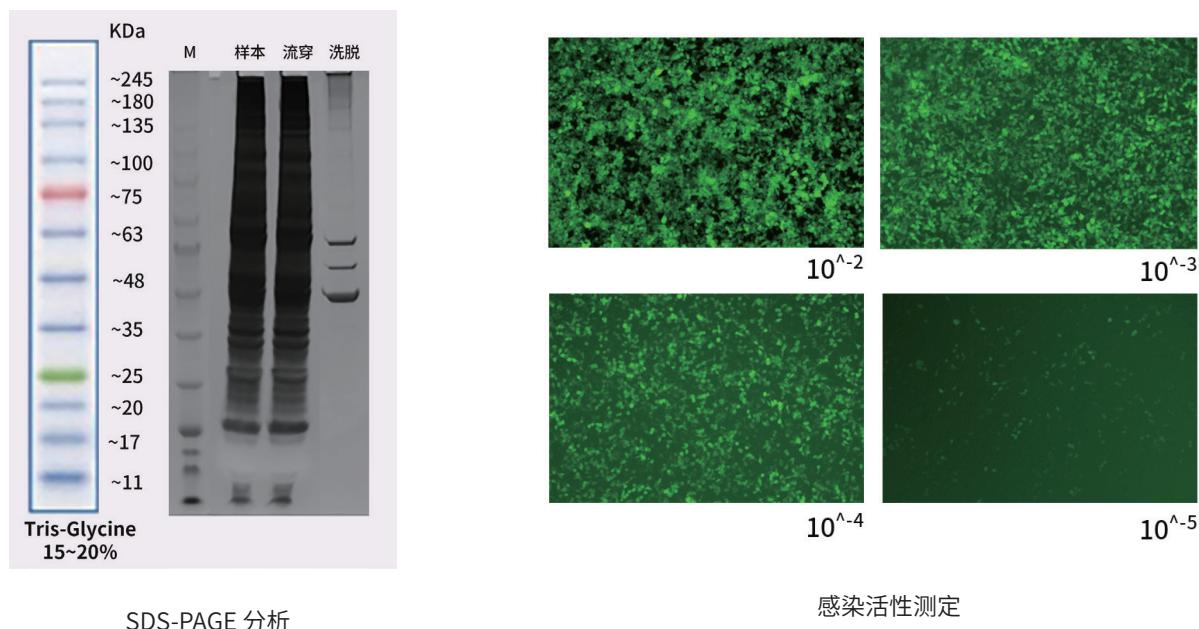
| 实验数据

1) 纯化后的AAV纯度测定

纯化后样本纯度测定，SDS-PAGE能够确认到以AAV衣壳蛋白VP1、VP2和VP3为主的电泳条带。

2) 纯化后 AAV 病毒的感染力评价

纯化后的AAV9-GFP病毒做梯度稀释后，感染293T细胞，病毒活性不受影响。



| 注意事项

1. 因受病毒包装效率影响，建议确定病毒包装滴度，在磁珠核载范围内进行纯化；
2. 粗纯样本建议加核酸酶处理，降低样品粘性和浊度，避免影响结合效率；
3. 磁珠在2-8°C保存，避免冻结；
4. 受到qPCR定量方法不同的影响，测得的拷贝数和核载效率会有差异，建议可以设置用量梯度验证纯化效率。

| 文献参考

- 1) Adeno-Associated Virus Production, Purification, and Titering YH Chen et al. Curr Protoc Mouse Biol (2018).
- 2) Scalable Production and Purification of Adeno-Associated Viral Vectors (AAV) D Blessing et al. Methods Mol Biol (2018).

专注基因递送，守护生命健康

We are dedicated to gene delivery, to protect life-health



联系我们

Add:苏州工业园区朝前路21号生物医药产业园五期C17/F4-5
4th and 5th floor, Building C17, BioBAY park 5,
21chaoqian Rd, Suzhou Industrial Park, China

Tel:400-8792-452 (技术热线)

Web:www.fubio.cn

Email:fubio@fubio.cn