

复百澳生物

AAV磁珠纯化试剂盒产品说明书



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℃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。

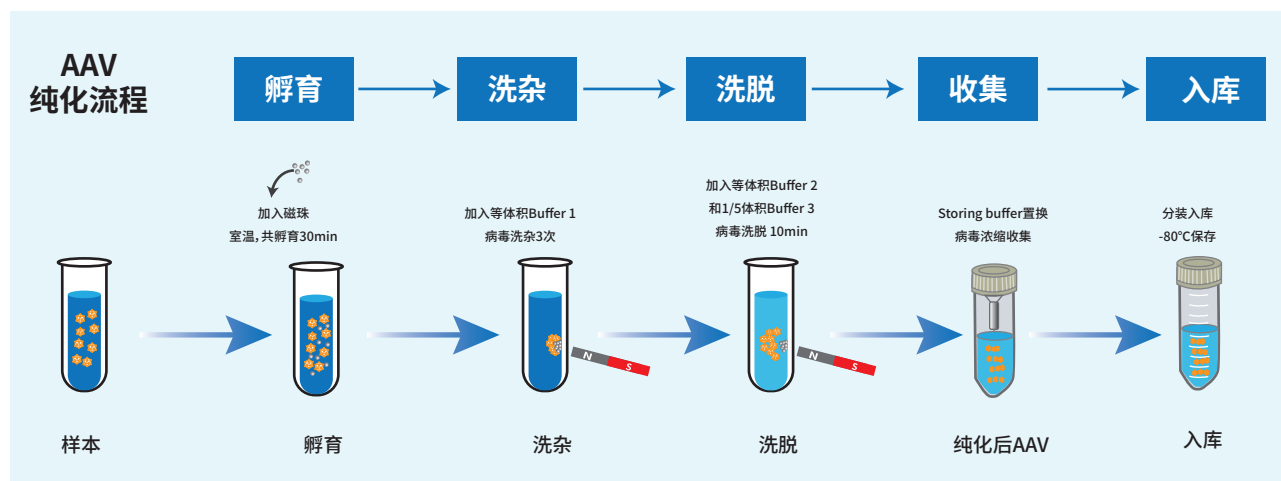
产品特点

- 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℃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 $1E+12$ vg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℃条件下保存。

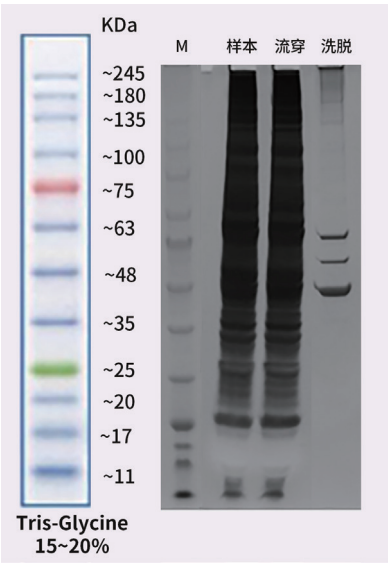
实验数据

1) 纯化后的AAV纯度测定

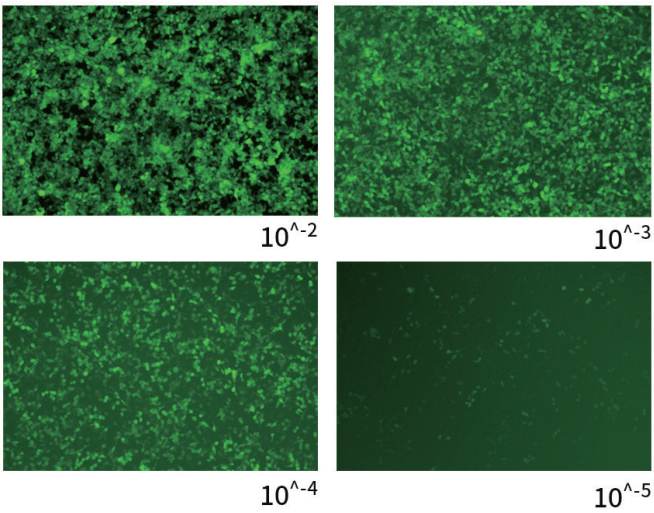
纯化后样本纯度测定, SDS-PAGE能够确认到以AAV衣壳蛋白 VP1、VP2和VP3 为主的电泳条带。

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。



SDS-PAGE 分析



感染活性测定

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℃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