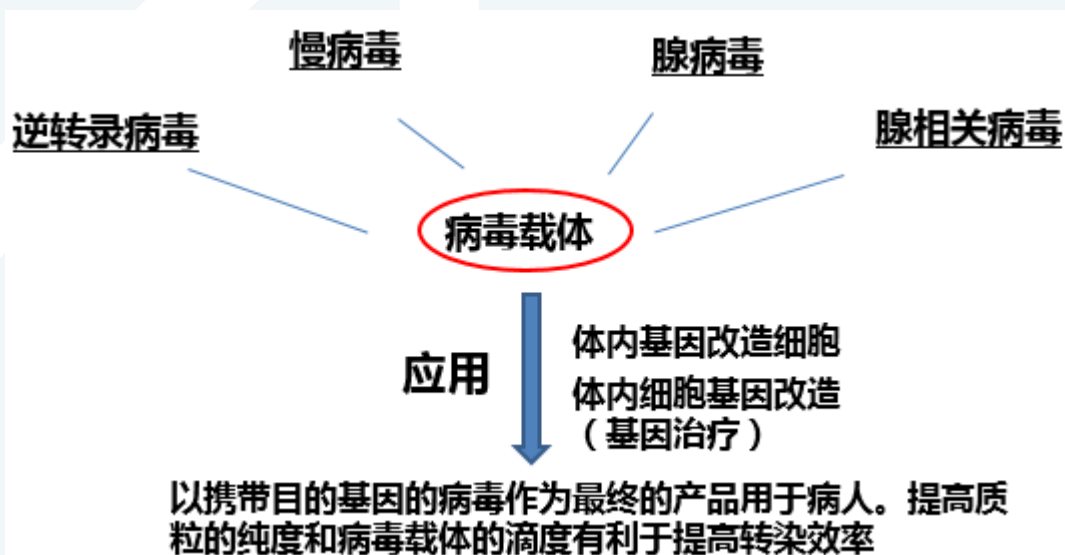


使用密度梯度离心法进行腺相关病毒的纯化

【himac CP-NX 超速离心机及 P32ZT 区带转头进行分离】

目前，病毒载体作为基因治疗，细胞治疗，疫苗生产的重要环节，已经被广泛使用和关注。其中的腺相关病毒（AAV），是一种附属病毒，大小在 22nm，无包被。AAV 是无致病性，高安全性病毒，提供了转基因的长期表达，适用于在不分裂细胞的转基因。



对于基因治疗等应用中的病毒载体，纯度要求高，需要一种高效的、高质量的生产纯化方法，本文将腺相关病毒为例，介绍使用 himac 超速离心 CP-NX 系列及区带转头进行纯化的方法。

主机及转头：himac 超速离心机 CP-NX 系列，及区带转头 P32ZT

himac 超速离心机：

- 有4个型号供用户选择:
 - 100,000 rpm (CP100NX)
 - 90,000 rpm (CP90NX)
 - 80,000 rpm (CP80NX)
 - 70,000 rpm (CP70NE)



- 同类品牌全球 **最高转速 (100000rpm)** 及**最大离心力 (803000 xg)**
- 具有多种**高端技术, 为行业领先**
 - 转头寿命自动管理系统
 - 最大的转头寿命
 - 目视平衡
 - 非接触式不平衡检测
 - 驱动部十年保用

转头：区带转头 P32ZT

- 最高转速：32000rpm
- 最大离心力：102000 xg
- 转头容量大：1690ml
- 加样/卸样更方便：提高产量，降低成本，便于管理
- 结构更合理：即使使用高密度蔗糖也不会发生内漏
- 转头K因子低：比同类品牌低30%左右。对于同样的样品，该转头离心完成时间少30%，所以转头消耗更少，寿命更长



离心条件：

设置转速：30500rpm；最大 RCF: 92500xg；时间：9 小时；加速/减速速率：7 加/7 减；设置温度：18°C

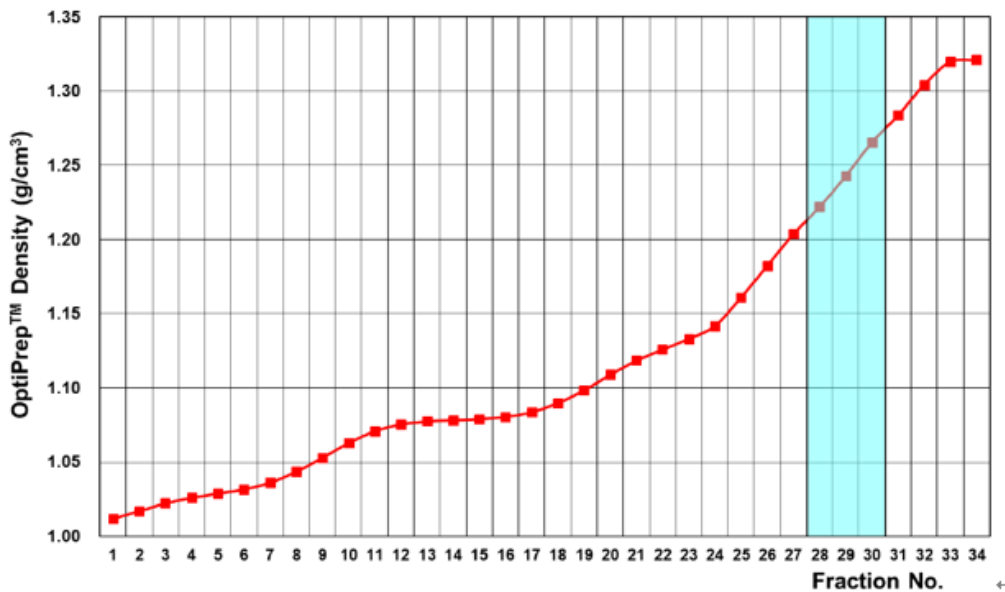
密度梯度液：OptiPrep™ (AXIS-SHIELD PoC AS) 60%的碘克沙醇（在水溶液里）
(1.32g/cm³)

离心步骤：

- I. 使用双蒸水将 OptiPrep™ 稀释，制作成 5, 15, 25, 40, 54%的碘克沙醇密度梯度介质
- II. 按如下顺序将双蒸水及各梯度液泵入转头：

双蒸水含有 AAV 的细胞裂解液	100ml
5%碘克沙醇 (1.031g/cm ³)	300ml
15%碘克沙醇 (1.085g/cm ³)	490ml
25%碘克沙醇 (1.137g/cm ³)	330ml
40%碘克沙醇 (1.215g/cm ³)	235ml
54%碘克沙醇 (1.291g/cm ³)	235ml
总共	1690ml
- III. 流速：30-50ml/分钟
- IV. 收集：每 50ml 一管进行收集，共 34 个收集管。

结果： 下图显示密度梯度离心结果，及密度梯度曲线。 AAV 的密度是 1.22 到 1.26g/cm³ (40-50% 碘克沙醇)，纯化的 AAV 会在蓝色条带处，可对编号 28-30 管进行收集



结论：使用上述超离方法可以对大量的样品进行腺相关病毒的纯化，用于后续的研究和应用。

如有任何其它相关问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司。