

复百澳生物

AAV产品技术手册

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

提供一站式AAV解决方案
满足客户从基础研究到临床应用全过程



About Us

关于我们

复百澳(苏州)生物医药科技有限公司,是一家专注于基因技术研发与应用转化的高新技术企业,坐落于苏州工业园区。复百澳生物致力于“病毒产品研发和服务”,产品线包括溶瘤病毒、假病毒、慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、质粒和细胞株等;客户群体覆盖生命科学研究、分子诊断、疫苗研发和基因治疗等领域。对于细胞基因治疗(CGT)和分子诊断(IVD)企业研发过程中不同的病毒产品需求,我们可以提供从项目立项调研、方案设计、病毒制备到生产工艺开发的全流程服务和技术支持。

Corporate Mission

企业使命

专注基因递送,守护生命健康

Corporate Values

企业价值观

品质、创新、协作、共赢

Corporate Vision

企业愿景

致力于成为一家对人类健康事业有卓越贡献的生物公司



CONTENTS 目录

01

AAV载体概述及优势

02

AAV血清型与启动子

03

AAV注射方法与用量

04

AAV产品使用与说明

05

AAV感染组织效果图

06

AAV常见问题与解答

07

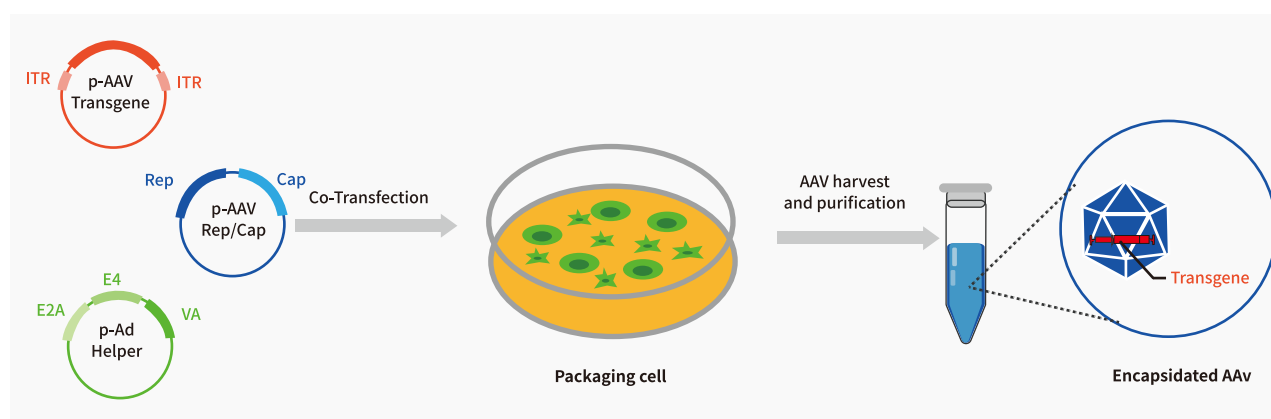
AAV现货产品列表

腺相关病毒概述

腺相关病毒 (Adeno-associated Virus, AAV) 属于细小病毒科 (Parvoviridae)，病毒颗粒无包膜，结构为直径约20nm的正二十面体，是迄今发现的一类结构最简单且无法自主复制的线性单链DNA病毒，对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染力。

rAAV概述

重组腺相关病毒 (rAAV) 是利用 AAV 基因组与不同血清型的衣壳蛋白基因组结合产生的嵌合体病毒载体。通过工程改造 AAV 衣壳蛋白，可以筛选到具有高转导效率和不同感染特性的 AAV 载体，极大增加了 AAV 的应用潜力。



rAAV包装流程图

AAV产品特点

高组织嗜性

AAV有百种血清型，能够特异性感染不同的组织或器官；

表达时间长

体内分裂不旺盛组织可以持续表达5个月以上；

安全性高

AAV是天然的缺陷型病毒，无致病风险；

高稳定性

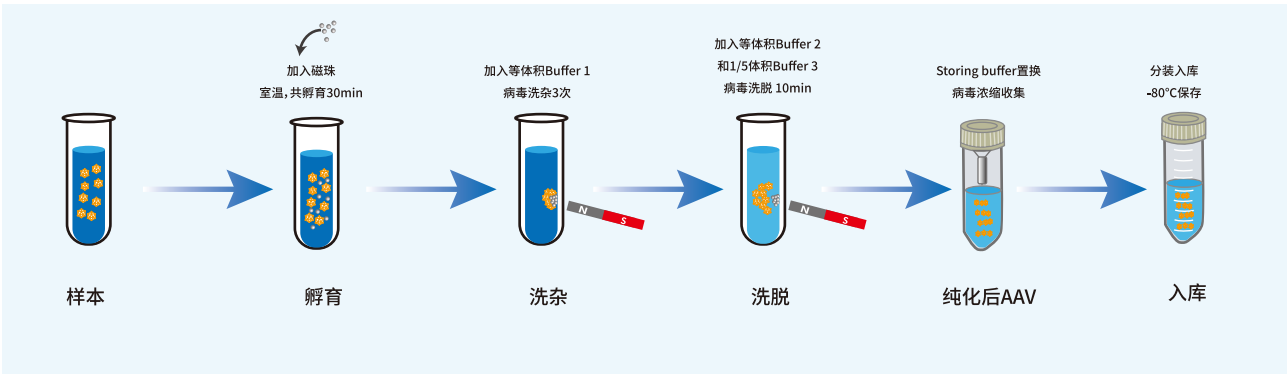
rAAV 病毒理化性质稳定，可在一定程度上耐受冻溶、高温及多种有机溶剂。

AAV产品概述

复百澳生物的AAV产品采用先进的悬浮工艺进行生产,确保了生产过程的高效性和规模化;在质量控制方面,公司严格遵循标准文件执行,从源头把控质量,保障产品的高纯度和批次间的稳定性。

在AAV产品的纯化环节,复百澳生物开发了**磁珠纯化**技术,相比于传统的碘克沙醇密度梯度离心法,**磁珠纯化法操作简便、实验效率更快,且病毒回收率显著提升**。经过严格纯化的AAV产品,可直接用于下游实验,为不同阶段的客户提供了可靠、高效的解决方案。

AAV纯化流程



AAV纯化流程图

AAV产品优势

领先工艺 悬浮生产工艺,满足多元需求。		高实心率 病毒实心率 $\geq 90\%$
	AAV产品优势	
快速交付 最快7个工作日完成。		低内毒素 内毒素水平 $< 5\text{EU/ml}$

AAV血清型与启动子

· 不同的AAV血清型具有不同的衣壳蛋白空间结构,因其识别与之结合的细胞表面受体不同,这也导致不同血清型AAV感染效率、组织亲嗜性、表达时间不同。

· 组织特异性启动子的靶向转录能力与特异性AAV血清型结合,靶向组织或细胞,进行目的基因表达,起到研究特定器官组织的疾病机制和精准治疗目的。

表1:不同AAV血清型对组织器官/细胞的亲和性

器官	血清型名称	启动子名称	启动子特性
大脑	AAV1、AAV2、AAV5、AAV8、 AAV9、PHP.eB、rh10	CamkIIa	前脑谷氨酸能神经元
		NSE	神经元
		Slc6a3、DAT	多巴胺神经元
		TH	儿茶酚胺神经元 (DA、NE、E)
		ChAT	胆碱神经元
		HCRT	下丘脑食欲素神经元
		SYN	成熟神经元
		shortGFAP、longGFAP	星形胶质细胞
		MBP、NG2/NGL2	少突胶质细胞
		lba1/CX3CR1	小胶质细胞
神经系统	AAV1、AAV2 retro、AAV5、AAV8、 AAV9、rh10	L7pcp2	小脑浦肯野细胞
		hVGAT、mDLx、fPV、fSST	中间神经元
		FEV	五羟色胺神经元
		CNP	髓鞘寡突胶质细胞、施万细胞
		TUBA1A	早期神经元
视网膜	AAV2、AAV5、AAV8、AAV9、 AnC80L65、AAV-shH10	hSyn	神经元
		Rpe65、VWD2、hBEST1	视网膜色素上皮细胞
		ProA1	视锥细胞
心脏	AAV1、AAV6、AAV9、rh10	hRHO	视杆细胞
心脏	AAV1、AAV6、AAV9、rh10	short αMHC、long αMHC、 cTNT+intron、Hcn4、Nkx2.5	心肌细胞
肌肉	AAV1、AAV3、AAV4、AAV6、AAV7、 AAV8、AAV9	Myog、ACTA1	成肌细胞
肺	AAV9、AAV2、AAV6、AAV8、AAV-DJ、 AAV5、rh10	SPB、SP-C(SFTPC)	AT II细胞、Clara细胞
肾	AAV2、AAV9、AAV-DJ	NPHS2	足细胞
肝脏	AAV2、AAV9、AAV8、rh10、 AnC80L65、AAV-DJ	hAAT、ALB、TBG、Afp	肝细胞
骨骼	AAV5	OC	成骨细胞、骨细胞和肥大软骨细胞
		Runx2	成骨细胞
脂肪	AAV8、AAV9	aP2、Adipoq	脂肪细胞
血管	AAV2、AAV8	short CD68、long CD68	单核巨噬细胞
		Tie1、CD144	血管内皮细胞
		SM22a、EnSM22a	血管平滑肌细胞
胸部	AAV8、AAV9	MMTV	涎腺导管细胞、乳腺上皮细胞
		Wap	乳腺肺泡上皮细胞

AAV注射方法与用量

AAV注射方法对组织器官的转染效果也有很大影响, AAV注射方法可以为[系统性注射](#)和[原位注射](#)两种。

- 1) 系统性注射方法常见的有尾静脉注射和腹腔注射;
- 2) 原位注射即局部注射, 根据需要在不同部位进行注射, 比如脑立体定位注射;

*采用相同的注射方法注射不同的AAV血清型, 其组织分布也不相同。

表2: 注射方式及注射用量

器官	动物种类	注射方式	病毒滴度	注射用量
大脑	大鼠/全脑	脑室注射	1.0E+12 v.g/ml	5μl
	大鼠/大脑(局部)	立体定位注射	1E+13 vg/ml	小鼠:0.2-2uL 大鼠:1-10uL
神经系统	小鼠/双侧海马	脑立体定位注射	5.0E+12v.g/ml	1ul/位点
	小鼠/海马CA1	脑立体定位注射	1.0E+12 v.g/ml	1ul/位点
	小鼠/杏仁核	脑立体定位注射	1.0E+12 v.g/ml	1ul/位点
视网膜	小鼠	视网膜下注射	2.2E+12 v.g/ml	成年鼠0.5ul 新生鼠0.3ul
心脏	小鼠	腹腔注射(新生鼠) 心肌定点注射(成年鼠)	5.0E+12v.g/ml	3ul/位点
	小鼠	主动脉注射	1.0E+12 v.g/ml	3ul/位点
肌肉	小鼠	原位注射	3E+11v.g/ml	30ul
	小鼠	肌肉定点注射	6E+10v.g/ml	50ul
	小鼠	肌肉注射	5E+11-1E+12v.g/ml	30-50ul
肝脏	小鼠	尾静脉注射	1.5E+11v.g/ml	200μl
肺	小鼠	滴鼻注射	4.0E+10v.g/ml	40μl
肾	小鼠	肾静脉注射	1.0E+11v.g/ml	100μl
脂肪	小鼠	多点注射	5.0E+10v.g/ml	10μl
胸部	小鼠	腺体注射	2.5E+10v.g/ml	50ul
胰腺	小鼠	胰腺胆管注射	1E+12 v.g/ml	150 μl

AAV产品使用说明

复百澳生物提供的AAV单位为 V.G./mL, (V.G./mL 是 virus genome/mL的缩写), 表示每毫升病毒溶液中包含的病毒基因组拷贝数, 采用定量 PCR 的方法测定。每个 AAV 病毒颗粒能且只能包裹一个基因组序列, 所以用基因组数可以来表示病毒的滴度。如: 病毒滴度标注为 1×10^{13} V.G./mL 或 $1 \text{E}+13$ V.G./mL。

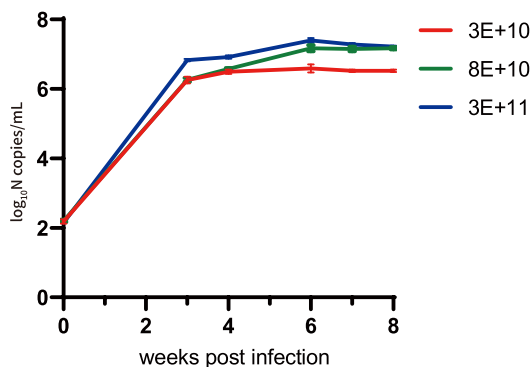
保存要求

- 1) 收到病毒后请置于 -80°C 冰箱中长期保存, 避免反复冻融, 多次冻融会降低病毒的活性(滴度)。
- 2) 使用前请将病毒从 -80°C 冰箱中取出, 进行冰浴融化。如需多次使用请分装, 分装体积 $3\sim 5\mu\text{L}$, 分装请使用无菌的 PCR 小管, 进口的低吸附塑料小管为佳。
- 3) 在病毒使用过程中, 应避免细菌等其他微生物污染, 特别是细胞实验时, 应保持其无菌, 以免污染细胞。当同一种病毒既要用于动物实验, 又要用于细胞实验时, 建议将两种病毒分开放置, 以免发生交叉感染。
- 4) 当病毒在 -80°C 条件下存放超过三年以上时, 请安排重新检测滴度。

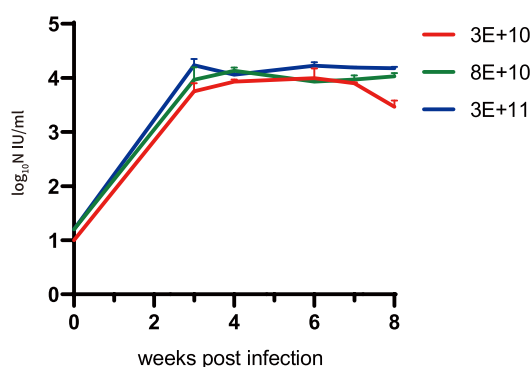
注意事项

- 1) 实验操作需要在BSL-2实验室和Class II 生物安全柜条件下进行, 并穿戴好实验服、口罩和手套等个人防护用品;
- 2) 如需要离心, 应使用密封性好的离心管, 如有必要请用封口膜封口后离心;
- 3) 如果实验时本品不慎溅出, 请立即使用84消毒液对其进行灭活处理, 如果溅到眼睛、皮肤或其他身体部位请立即使用大量清水冲洗;
- 4) 使用本品所产生的实验废弃物需要通过高压灭菌处理后按照医疗废弃物处理要求进行处理;
- 5) 实验结束后注意使用肥皂清洗双手。

应用案例



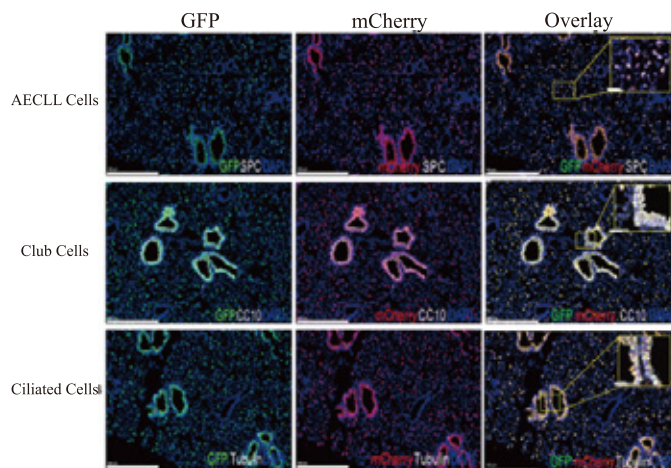
rAAV-1.3HBV小鼠动物模型血清中HBV DNA含量



rAAV-1.3HBV小鼠动物模型血清中HBsAg含量

AAV感染不同组织效果图

01、气管插管注射



感染部位:肺部

病毒类型: AAV6-CAG-GFP/AAV6-CAG-mCherry共感染

感染动物: 小鼠

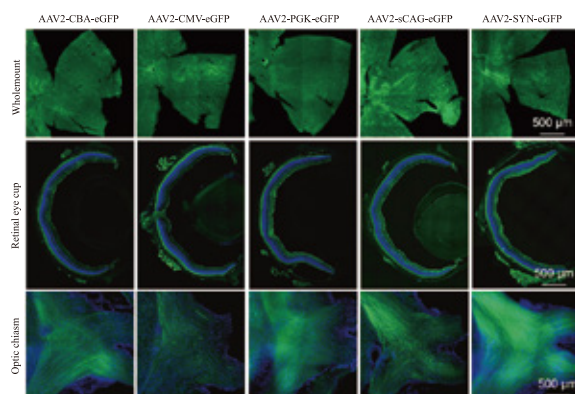
注射方式: 气管插管术注射

注射剂量: $4E+12$ VG/只, (50ul)

检测方法: 感染1周后, 取肺组织, 石蜡切片, IF染色

图片来源: 10.1016/j.omtm.2022.10.016

02、玻璃体注射



感染部位:眼部

病毒类型: AAV2-CMV-eGFP

感染动物: 小鼠

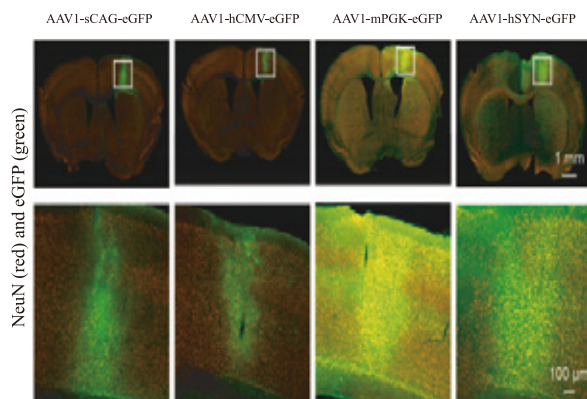
注射方式: 玻璃体注射

注射剂量: $2.5E+12$ VG/ml, (2μL)

检测方法: 注射31天后, 视网膜冷冻切片

图片来源: 10.1038/s41434-022-00380-z

03、立体定位注射



感染部位:大脑

病毒类型: AAV1-hSyn-eGFP

感染动物: 小鼠

注射方式: 立体定位注射

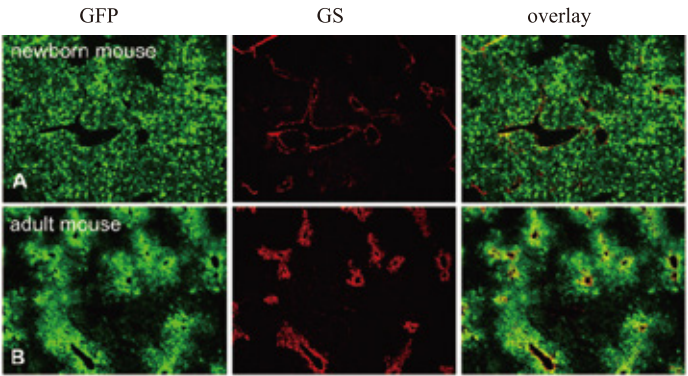
注射剂量: $1.42E+12$ VG/ml, (0.5uL/位点)

检测方法: 注射6周后, 取脑组织, 切片

图片来源: 10.1038/s41434-020-0169-1

AAV感染不同组织效果图

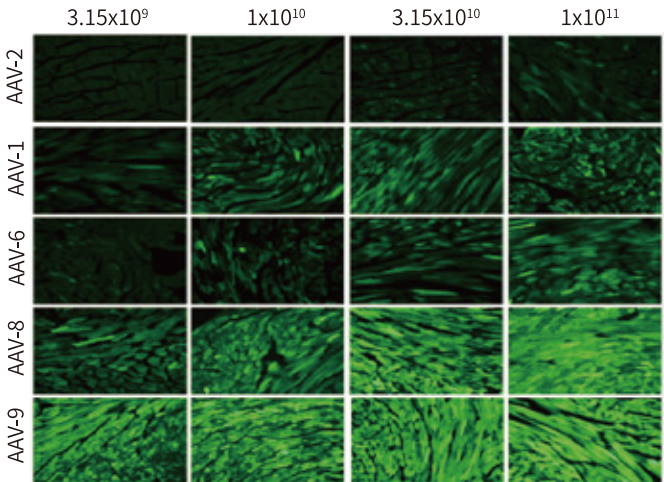
04、尾静脉注射



感染部位: 肝脏

病毒类型: rAAV8-TBG-GFP
感染动物: 小鼠
注射方式: 尾静脉注射
注射剂量: $1E+11$ VG/只
检测方法: 注射7天后, 取肝脏组织进行免疫荧光检测
图片来源: 10.1016/j.yimgme.2011.06.002.

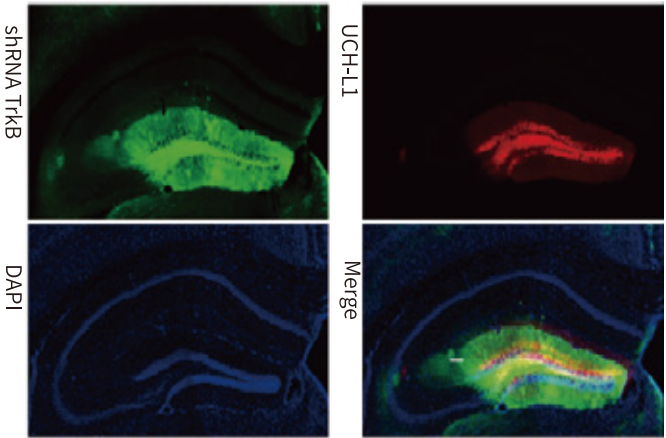
05、颈静脉注射



感染部位: 心脏

病毒类型: rAAV9-cTNT-Egfp
感染动物: 小鼠
注射方式: 颈静脉注射
注射剂量: $1E+11$ VG/只
检测方法: 注射4周后, 取心脏组织冷冻切片
图片来源: 10.1038/gt.2010.105

06、脑定位注射

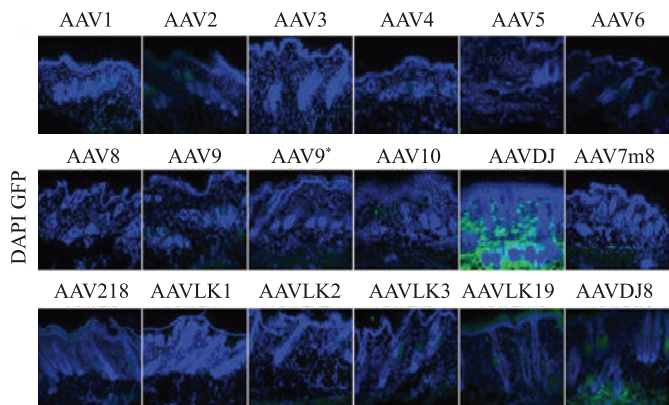


感染部位: 海马体

病毒类型: AAV9-UCH-L1/ AAV9-shTrkB
感染动物: 小鼠
感染方式: 脑定位注射
检测方法: 注射10天后, 免疫荧光检测
图片来源: 10.1523/JNEUROSCI.3148-16.2017

AAV感染不同组织效果图

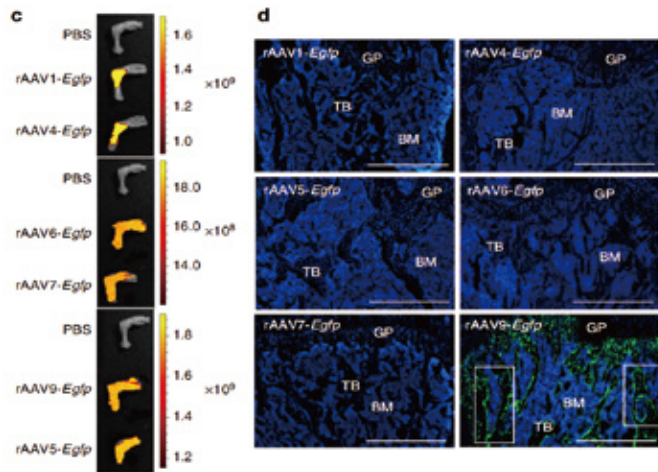
07、皮下注射注射



感染部位: 皮肤

病毒类型: rAAV DJ-CAG-G
感染动物: 小鼠
注射方式: 皮下注射
注射剂量: $1E+11$ VG/只
检测方法: 注射7天后冷冻切片, 免疫荧光
图片来源: 10.1038/s41586-018-0477-4

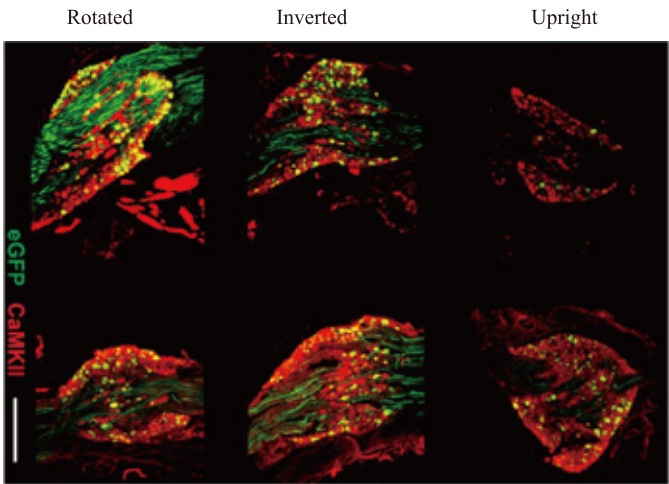
08、颈静脉注射



感染部位: 骨

病毒类型: rAAV9-eGFP
感染动物: 小鼠
注射方式: 膝关节注射
注射剂量: $1E+11$ VG/只
检测方法: 注射2周后, 解剖股骨和膝关节进行光学成像或冷冻切片
图片来源: 10.1038/s41467-019-10809-6

09、鞘内注射



感染部位: 脊髓

病毒类型: AAV9-CAG-eGFP
感染动物: 大鼠
感染部位: 脊髓
注射方式: 鞘内注射
注射剂量: $1E+12$ VG/只
检测方法: 注射4周后, 免疫组化切片
图片来源: 10.1126/sciadv.aau9859

问

AAV作为一种体内常用的工具载体,可应用于哪些方面?

答:基因过表达:将目的基因的CDS区构建到AAV载体,注射到动物体内实现过表达。

基因干扰表达:将针对目的基因设计的shRNA构建到AAV载体,注射到动物体内实现干扰表达。

目的基因敲除:将针对目的基因设计的sgRNA和Cas9编码序列分别构建到AAV载体中,注射到动物体内实现基因敲除。

内源过表达:将针对目的基因设计的sgRNA和dCas9分别构建到AAV载体,实现内源过表达。

问

为什么AAV很少用于细胞感染,而更适合动物实验?

答:AAV转染细胞的表达效率较低,单链DNA变成双链DNA的过程缓慢,体外细胞生长速度快,导致AAV表达水平降低。但在体内研究中,AAV可以特异性靶向多种器官组织,转导途径简便,免疫原性低于腺病毒,感染效率高于慢病毒,因此表达丰度和持续时间更好。

问

实现AAV在动物体内表达需要注意哪些关键点?

答:血清型的选择:不同的衣壳蛋白结构识别不同的细胞受体,影响AAV的感染效率和组织亲和性。

启动子的选择:广谱性启动子或特异性启动子的选择,影响细胞的特异性表达。

注射方式:局部多点注射靶器官可取得较好的特异性和表达效果。

病毒量及滴度:不同的靶器官组织和AAV血清型推荐注射的AAV量不同,但使用量并非越多越好。

问

AAV注射动物后一般多久可以观察效果?

答:AAV属于单链DNA病毒,感染到胞内需要形成双链形式的附加体才能进行基因表达。在1-2周的时候即使有表达表达量通常也比较低,一般情况下建议病毒注射3-4周以后再检测基因表达情况比较稳妥。

问

在动物体内注射AAV后效果未达到理想状态?

答:病毒包装制备问题:外源基因序列是否正确,病毒滴度是否合格等,都可能影响病毒的效果。

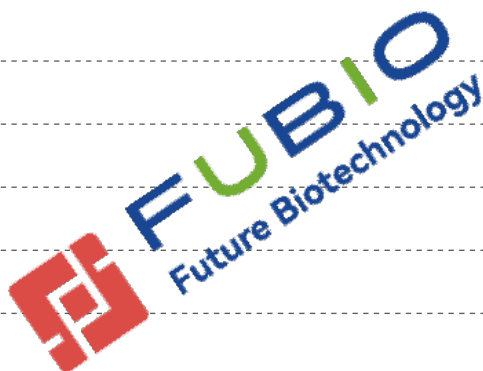
启动子选择不当:目的基因表达调控元件不合适,如启动子活性低或与目标组织不匹配,也会影响基因表达。

检测时间问题:AAV在体内表达需要一定时间,如果检测时间过早,可能无法达到理想的效果。

AAV现货产品列表

类别	产品货号	产品名称	产品规格
AAV2	FAAV2-319	AAV2-Luciferase	50μl/支
	FAAV2-295	AAV2-CMV-EGFP	50μl/支
AAV5	FAAV5-319	AAV5-Luciferase	50μl/支
	FAAV5-295	AAV5-CMV-EGFP	50μl/支
AAV8	FAAV8-319	AAV8-Luciferase	50μl/支
	FAAV8-295	AAV8-CMV-EGFP	50μl/支
	FAAV8-350	AAV8-SYN-EGFP	50μl/支
	FAAV8-069	AAV8-GFAP-EGFP	50μl/支
	FAAV8-377	AAV8-TBG-EGFP	50μl/支
	FAAV8-7482	AAV8-TBG-Cre	50μl/支
	FAAV8-5643	AAV8-1.3xHBV(D,ayw)	50μl/支
	FAAV8-7409	AAV8-HCRApoE/hAAT-mPCSK9-D377Y	50μl/支
	FAAV8-7410	AAV8-HCRApoE/hAAT-hPCSK9-D374Y	50μl/支
AAV9	FAAV9-319	AAV9-Luciferase	50μl/支
	FAAV9-295	AAV9-CMV-EGFP	50μl/支
	FAAV9-350	AAV9-SYN-EGFP	50μl/支
	FAAV9-069	AAV9-GFAP-EGFP	50μl/支
	FAAV9-377	AAV9-TBG-EGFP	50μl/支
	FAAV9-7482	AAV9-TBG-Cre	50μl/支
	FAAV9-7409	AAV9-HCRApoE/hAAT-mPCSK9-D377Y	50μl/支
	FAAV9-7410	AAV9-HCRApoE/hAAT-hPCSK9-D374Y	50μl/支

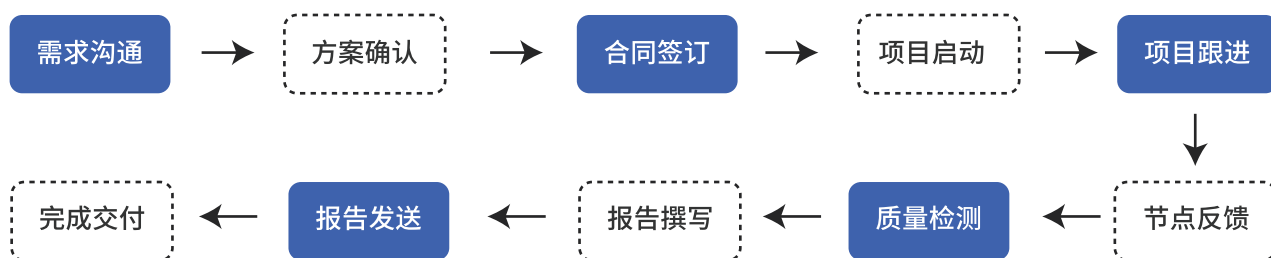
Notes



产品定制服务

复百澳生物提供的溶瘤病毒、假病毒、慢病毒、腺病毒、腺相关病毒等全部板块产品均可根据用户需求进行个性化定制。

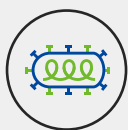
产品定制流程



5大核心技术平台 满足市场多元化产品需求



溶瘤病毒改造平台



质控品开发平台



疫苗评价产品平台



工具病毒生产平台



细胞株产品服务平台

复百澳生物提供一站式病毒产品开发与服务



专注基因递送, 守护生命健康

We are dedicated to gene delivery to protect life-health



扫码关注下载产品说明书



Add: 苏州工业园区朝前路21号
生物医药产业园五期C区17栋/F4
Room 401/501, Building C17, BioBAY phase 5,
21 Chaoqian Rd, Suzhou Industrial Park, China



联系我们



Tel: 400-8792-452 (技术热线)



Web: www.fubio.cn



Email: fubio@fubio.cn