

# 使用 Sartoclear Dynamics 過濾系統進行慢病毒載體的澄清和收穫!



目前已有三千多項關於病毒載體正在進行臨床試驗，其中約 10%是以慢病毒載體進行的。慢病毒載體通常是透過多種質體載體瞬時轉染到 HEK293T 細胞而產生的，病毒會釋放到上清液中，因此要將細胞培養液中的細胞/雜質移除，而在 CAR-T 研究中則是缺乏建立 LV 澄清的黃金方法。常規標準使用以離心機分離再進行上清液微孔濾膜澄清，但是僅透過單一步驟的過濾再加上 DE 助濾劑的輔助，將可有效捕獲和澄清 LV，且提高 LV 純化和 T 細胞轉導效率。

## 實驗目的和總結：

主要使用含有矽藻土(DE)之 Sartoclear Dynamics<sup>®</sup> Lab V50 來澄清懸浮細胞 HEK293 產生的慢病毒載體(Lentiviral vectors, LV)，透過使用實驗設計(DOE)分析 Sartoclear Dynamics<sup>®</sup> Lab V50 和與標準法比較，結果發現：

1. 高濃度 DE 雖降低感染力價，但有利降低濁度和加快過濾時間。
2. 較低濃度 DE 有利回收高 LV 力價。
3. 與標準法比，Sartoclear Dynamics<sup>®</sup> Lab V50 可更好的將濁度/汙染物降低、提升過濾能力和提升整體膜的使用容量。

4. 相比標準法，更快、更安全進行處理，且減少耗材使用量。
5. Sartoclear Dynamics® Lab V50 適用於捕獲和澄清慢病毒載體。

**實驗結果：**

一、使用 MODDE® software (Sartorius)在 DOE 研究中評估 DE 濃度和接觸時間對濁度、感染力價和過濾時間的影響：

1. 當 DE 濃度升高，感染力價呈線性下將。
2. 隨著 DE 濃度的增加，過濾時間減少。
3. 隨著樣品與 DE 的接觸時間越長，濁度線性降低。

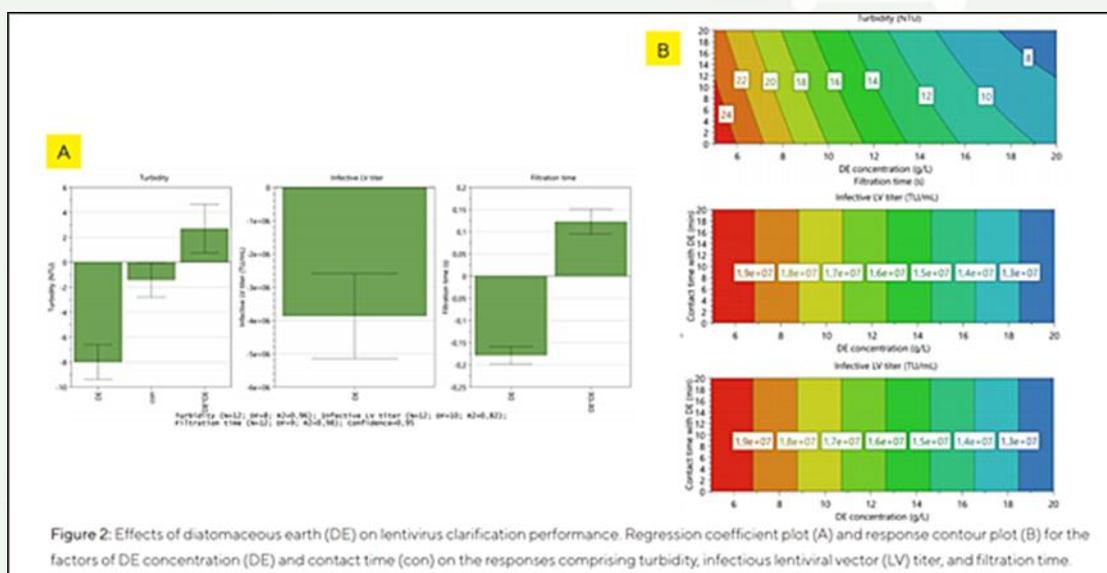
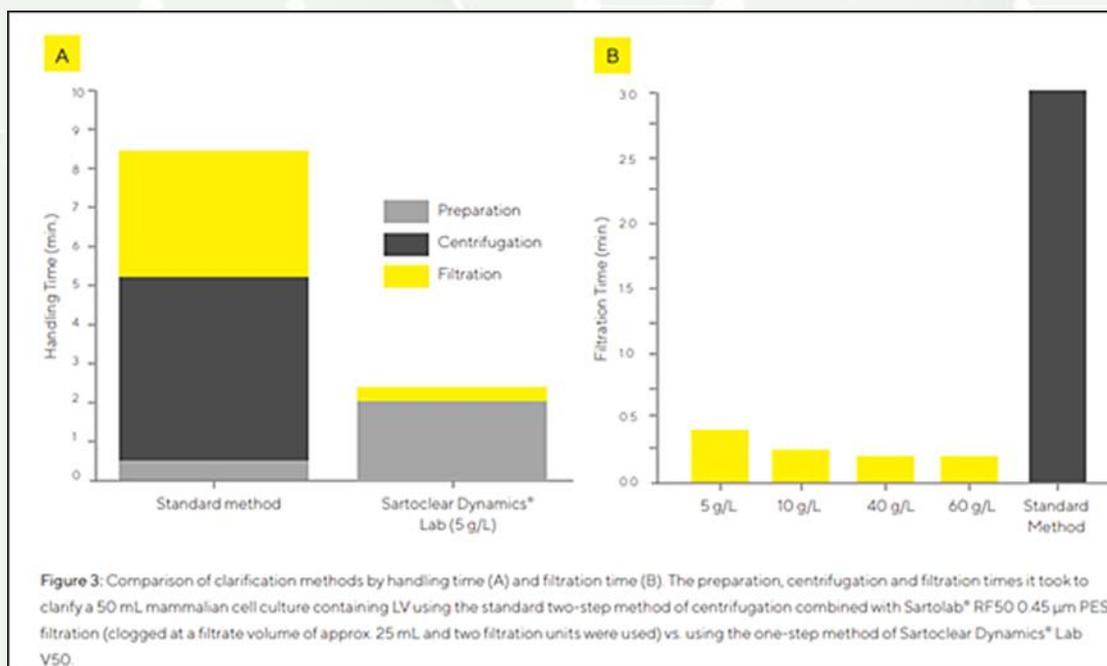


Figure 2: Effects of diatomaceous earth (DE) on lentivirus clarification performance. Regression coefficient plot (A) and response contour plot (B) for the factors of DE concentration (DE) and contact time (con) on the responses comprising turbidity, infectious lentiviral vector (LV) titer, and filtration time.

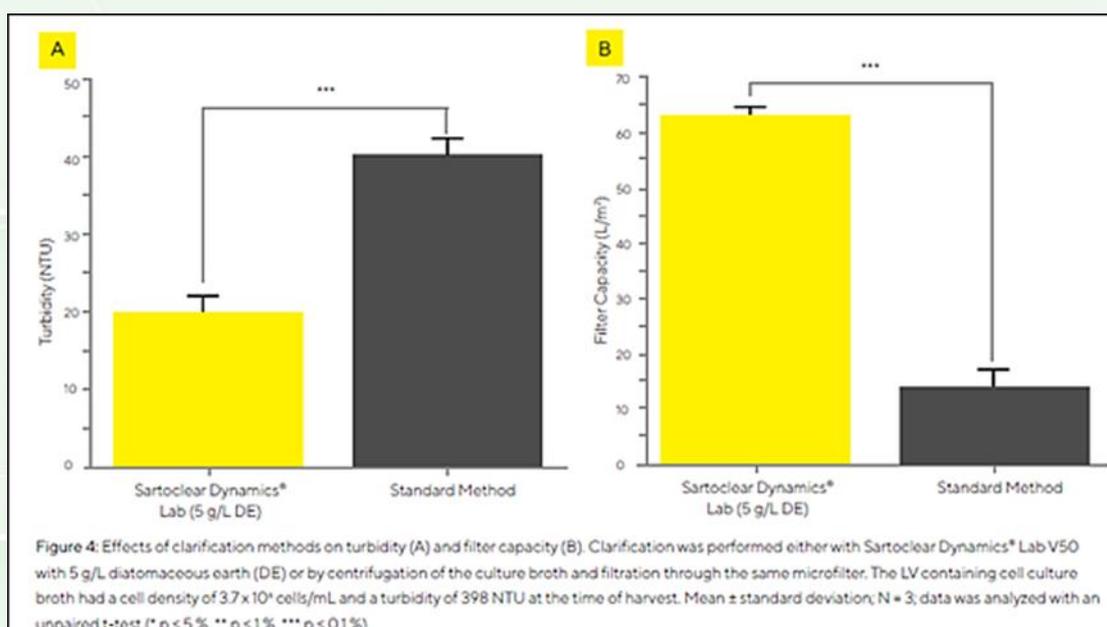
二、評估 Sartoclear Dynamics® Lab V50 對處理時間的影響：

1. 使用標準法，大約 25ml 後，第一個 Sartolab® RF50 過濾器堵塞，因此需使用第二個 Sartolab® RF50 將剩餘液體過濾，費時費力。
2. 使用 Sartoclear Dynamics® Lab V50 因不需再進行離心，可有效降低總處理時間 3.8 倍。



### 三、評估 Sartoclear Dynamics®Lab V50 對濁度和過濾器容量的影響：

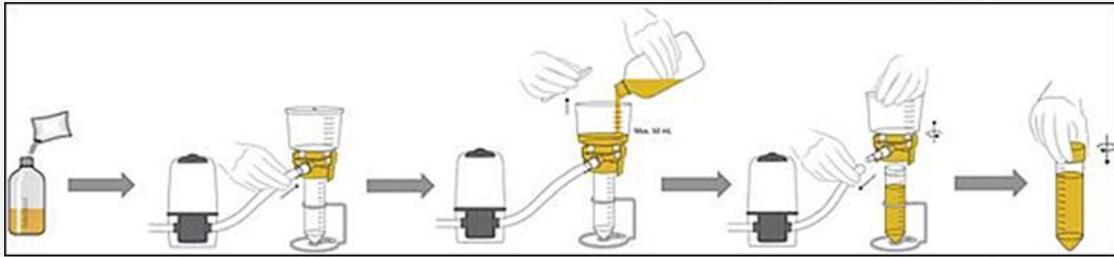
1. 標準法：濁度可至 43NTU (89 %降低)。
2. 使用 Sartoclear Dynamics® Lab V50 (5g/L DE)，可將濁度降到 21NTU(95%降低)。
3. 搭配最少量 5g/L 之 DE，來確認澄清過濾器的容量，直到過濾阻塞為止，發現 Sartoclear Dynamics®Lab V50 可裝置超過 50ml 的容量，標準僅約過濾 33ml 時發生阻塞。



四、評估 Sartoclear Dynamics®Lab V50 去除雜質的影響：

1. 約 10 g/L 的 DE 會增加蛋白質和 dsDNA 的移除。
2. 10 g/L~40 g/L 之間的較高 DE 濃度，移除能力沒有明顯增加。
3. 與常規離心後，再澄清方法相比，不論 DE 濃度為何皆顯著提高雜質移除濃。

★ 最後跟大家複習如何操作 Sartoclear 吧!



將矽藻土倒入細胞培養液中進行均勻混合→將過濾裝置與真空馬達相連接→將含有矽藻土之細胞培養液倒入過濾裝置→真空過濾→過濾即完成。

原廠商品[資訊請點我](#)