

应用免疫磁珠分离法纯化弓形虫速殖子的研究

楼 研^{1,2}, 沈继龙¹, 程维晟¹, 刘 芳¹, 陈 鹤¹, 罗庆礼¹, 王 林¹

摘要 目的 用免疫磁珠分离法分选弓形虫速殖子,以去除宿主细胞成分,并尽可能对虫体的生物学特性无不良影响,为弓形虫的基础与临床研究提供技术基础。方法 采用弓形虫 Wh3 株(China 1 基因型)速殖子感染小鼠,提取腹腔液,常规方法制备速殖子可溶性抗原,免疫家兔,获得兔抗弓形虫多克隆 IgG 抗体。用抗体包被的免疫磁珠对小鼠腹腔液内弓形虫速殖子进行纯化,比较其纯度、回收率、虫体活力、毒力与感染性。结果 用免疫磁珠分离技术纯化弓形虫速殖子后,其纯度提高到 98.2%,细胞清除率为 96%,虫体回收率为 73.5%;用内盐法(MTS)细胞增殖与毒性检测试剂盒检测分离后的速殖子活性为 95.6%。定量分组感染小鼠后死亡时间无显著性差异。结论 免疫磁珠分离的速殖子纯度、细胞清除率和虫体回收率较高,能有效去除宿主细胞,且对速殖子的活性和毒力无影响。该法操作简便快速,无需昂贵的仪器设备,具有较大的实用价值。

关键词 弓形虫;速殖子;纯化;免疫磁珠分离

中图分类号 R 382.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)01-0009-05

弓形虫是一种广泛寄生于人和多种动物有核细胞内的机会致病性原虫,能造成多脏器和组织损害而引起人畜共患的弓形虫病。弓形虫病分布广泛,据文献^[1]报道全球约有 1/3 人血清试验呈阳性反应。由于该虫是有核细胞内的专性寄生原虫,因此在弓形虫和弓形虫病的基础和临床研究中,以及免疫诊断的抗原制备中,如何从培养细胞或者小鼠腹腔液内快速获得高度纯化的弓形虫速殖子显得尤为重要。实验室常用方法为细胞悬液吹打离心法、滤膜过滤纯化等^[2],但各种方法的纯化产物尚有不同程度的宿主细胞的污染,或者回收率较低^[3-4]。有报道^[5]显示胰蛋白酶消化法虽可获得较为纯净的

速殖子,但是消化过程可能难免对虫体表膜生化结构产生不良影响。因此,如何从弓形虫感染的宿主标本中提取纯化的速殖子,尽可能去除宿主细胞成分的污染,又尽可能避免对虫体产生机械或者化学的损伤,不影响其活性与毒力,对弓形虫的研究取材具有重要意义。免疫磁珠分离法是近年来发展较快的一种新技术,尤其在细胞分选方面得到广泛的应用^[6]。用此技术纯化弓形虫速殖子,以期建立一种快速、简便获得纯化弓形虫速殖子的方法。

1 材料与方法

1.1 实验动物与虫株 SPF 级昆明种小鼠,6~8 周龄,新西兰白兔体重 2.5 kg 左右,均购自安徽医科大学实验动物中心。弓形虫株采自无主流浪猫,Wh3 株(基因型为 China 1)为强毒株,经小鼠腹腔接种传代,抽取腹腔液 4℃ 保存。

1.2 主要试剂 福氏佐剂购自美国 Sigma 公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海麦莎生物科技有限公司;弓形虫间接血凝抗体诊断试剂盒(indirect hemagglutination antibody, IHA) 购自兰州兽医研究所;纯化抗体所用试剂 Protein A Sepharose CL-4B 购自美国 GE Healthcare 公司;免疫磁珠分选器 Midi MACS 和磁珠 Goat Anti-Rabbit IgG MicroBeads 均购自德国美天旎公司;内盐法(MTS)细胞增殖与毒性检测试剂盒购自上海贝博生物试剂公司;其余所用试剂均为国产试剂。

1.3 方法

1.3.1 猫源弓形虫虫株的分离 将猫的心、脑、舌组织剪切并轻磨成匀浆,加入盐酸-胃蛋白酶溶液消化处理后,用无菌生理盐水制成混悬液,腹腔接种于昆明种小鼠,每只小鼠接种 1 ml。接种后 4~5 d,小鼠出现弓背、闭目、腹部膨大伴颤动、皮毛松竖、呼吸急促等症状。麻醉下剖杀小鼠,抽取腹腔液,涂片镜检。发现有大量速殖子后,用无菌 PBS 冲洗腹腔,抽取冲洗液于 EP 管中 4℃ 保存备用^[7]。

1.3.2 弓形虫抗原的制备 小鼠腹腔冲洗液经 3 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,沉淀用无菌 PBS 洗涤,再离心,重复 2 次后,沉淀加少量 PBS 重悬-20~4℃ 反复冻融 3 次,置冰水浴中超声粉碎,共

2013-10-09 接收

基金项目:国家重点基础研究发展计划资助(973 计划)(编号:2010CB530001)

作者单位:¹安徽医科大学病原生物学教研室,安徽病原生物学省级实验室,安徽省人兽共患病重点实验室,合肥 230032

²安徽医学高等专科学校病原生物学与免疫学教研室,合肥 230601

作者简介:楼 研,女,讲师,硕士研究生;

沈继龙,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: shen-jilong53@126.com

4个循环。将超声破碎产物4℃、12 000 r/min离心20 min,吸取上清液即为弓形虫抗原,分装于无菌EP管中^[8]。BCA蛋白浓度测定法测定抗原浓度,用酶标仪测定550 nm处吸光度值(A_{550})根据标准曲线计算出抗原浓度。

1.3.3 抗体制备及效价测定 将上述制备的抗原加入等体积的福氏佐剂乳化,在新西兰大白兔后腿肌肉内及脊柱两旁皮下进行多点注射^[8],共免疫3次,每次间隔28 d,第1次用福氏完全佐剂,后两次加强免疫用福氏不完全佐剂,第3次免疫10 d后心脏放血分离血清,分装后-20℃保存。用弓形虫IHA间接血凝诊断试剂测定抗体效价。

1.3.4 亲和层析柱纯化抗体 将Protein A Sepharose CL4B溶解后装柱,取兔血清3 ml加入等体积PBS稀释,滤膜过滤后将血清加入柱料上,按说明书操作进行纯化,收集抗体后分装,-20℃保存备用^[9]。

1.3.5 SDS-PAGE电泳 SDS-PAGE电泳浓缩胶浓度为5%,分离胶浓度为12%,每槽加样8 μl,电泳3 h结束后凝胶用考马斯亮兰R250染色3 h,脱色液脱色至背景清亮条带清晰为止,拍照保存。

1.3.6 磁珠分离弓形虫速殖子 将4℃保存的含有速殖子的小鼠腹腔液3 000 r/min离心10 min洗涤,取沉淀,加少量生理盐水重悬,调整浓度至 10^6 个/ml。将洗涤后的小鼠腹腔液平均分为3组:A组不做任何处理作为空白组;B组使用移液器轻轻反复吹打从小鼠细胞中释出速殖子作为对照组;C组为磁珠分离组。

磁珠分选时所用缓冲液:pH 7.2 PBS,含有0.5%牛血清蛋白和2 mmol/L EDTA。按照说明书操作并稍加改进:将速殖子悬液与抗体混匀,室温孵育30 min,加1~2 ml缓冲液洗涤,3 000 r/min离心10 min,完全吸去上清液,加80 μl缓冲液重悬。再加20 μl羊抗兔IgG MicroBeads,室温25℃孵育30 min,加1~2 ml缓冲液轻洗,3 000 r/min离心10 min,吸去上清液,加500 μl缓冲液重悬。将LS柱子(Large Cell Separation Columns)置于Midi MACS分选器的磁场中,加悬液到柱子上,3 ml缓冲液洗涤柱子3次,收集未标记细胞。将柱子从磁场移除,加5 ml缓冲液到柱子,立即用和LS柱配套的柱塞冲洗收集磁标记部分,4℃冰箱保存。

将磁珠分离前的小鼠腹腔液和磁珠分离后的虫体悬液用血细胞计数板镜下计数速殖子和小鼠腹腔细胞,计算速殖子纯度、细胞清除率及虫体回收率。

速殖子纯度(%) = [弓形虫速殖子数 / (小鼠细胞数 + 弓形虫速殖子数)] × 100%, 细胞清除率 = [1 - (纯化后细胞数 / 纯化前细胞数)] × 100%, 虫体回收率 = (磁珠分离后速殖子总数 / 分离前速殖子总数) × 100%。弓形虫速殖子总数 = (计数盘上虫体数 / 4) × 10^4 × 液体总量。磁珠分选前后速殖子悬液瑞氏染色镜检。

1.3.7 磁珠分离速殖子的毒力测定 将小鼠随机分为3组,每组6只。将前述3组速殖子悬液,分别按 5×10^3 个速殖子/鼠剂量腹腔接种小鼠,观察各组小鼠的死亡时间、死亡数以及临床表现。

1.3.8 速殖子活性检测 用MTS细胞增殖与毒性检测试剂盒检测速殖子活性,将速殖子悬液浓度调整至虫数一致,按说明书操作,空白组加无菌生理盐水,每组各做3个复孔取平均值,置37℃温箱孵育4 h后,用酶标仪测定490 nm各孔吸光度值。根据公式计算速殖子活性 = (磁珠分离后吸光度均值 - 空白组吸光度均值) / (磁珠分离前吸光度均值 - 空白组吸光度均值) × 100%。

1.4 统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验。

2 结果

2.1 抗原浓度 经BCA法检测,根据标准曲线计算出抗原蛋白质浓度为0.7 mg/ml。

2.2 抗体效价 IHA试剂盒测定抗体效价,1号免疫兔血清终点滴度为1:2 044;2号兔为1:4 096。

2.3 弓形虫多克隆抗体SDS-PAGE电泳 将纯化后弓形虫多克隆抗体与纯化前兔血清对照进行SDS-PAGE电泳,纯化前兔血清显示多条带,而纯化后IgG抗体显示轻链和重链两个主要蛋白条带,前者分子量约25 ku,后者约50 ku,见图1。

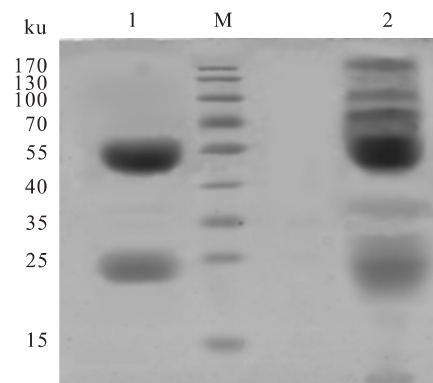


图1 纯化后抗体与纯化前兔血清SDS-PAGE电泳
1:亲和层析法纯化后抗体;M:Marker;2:纯化前兔血清

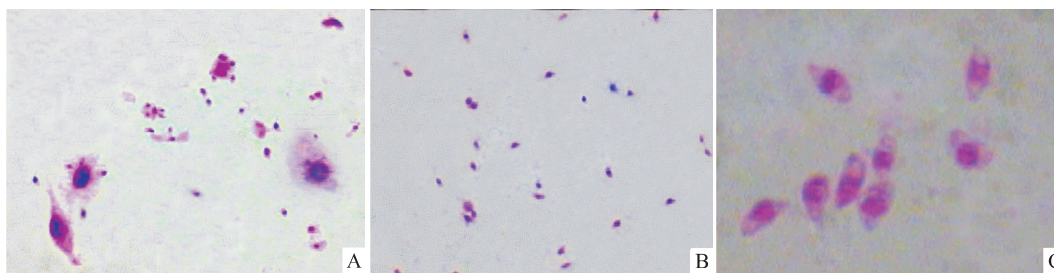


图2 磁珠分离前后速殖子悬液涂片

A: 磁珠分离前小鼠腹腔液涂片 瑞氏染色 $\times 400$; B: 磁珠分离后速殖子悬液涂片 瑞氏染色 $\times 400$; C: 磁珠分离后速殖子悬液涂片 瑞氏染色 $\times 1000$

2.4 磁珠分离前后弓形虫速殖子纯度与回收率比较 经统计学两样本均数 t 检验分析, 磁珠分离前后 (B 组与 C 组) 速殖子纯度有明显差异 ($t = 271 > t_{0.01}$, $P < 0.01$), 说明此法纯化后速殖子纯度显著提高。细胞清除率结果为 96%, 见表 1。

计数磁珠分离前速殖子总数为 5.1×10^6 个, 磁珠分离后悬液速殖子总数为 3.75×10^6 个, 则虫体回收率为 73.5%。

表1 磁珠分离后与分选前各组弓形虫速殖子纯度比较

组别	弓形虫速殖子数 (个/ml)	小鼠细胞数 (个/ml)	纯度(%)
A	5.0×10^6	1.6×10^6	75.7
B	5.1×10^6	1.6×10^6	76.1
C	3.8×10^6	7.0×10^4	98.2 ^{**##}

与 A 组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 B 组比较: ^{##} $P < 0.01$

2.5 磁珠分离前后速殖子及小鼠细胞瑞氏染色镜检 磁珠分离前腹腔液涂片可见速殖子和少量小鼠细胞, 分离后悬液涂片可见大量速殖子, 视野中小鼠细胞比例明显减少, 见图 2。

2.6 速殖子活性检测 磁珠分离后速殖子活性为 95.6%。经统计学两样本均数 t 检验分析处理, 磁珠分离前后速殖子活性检测吸光度值差异无统计学意义 ($t = 0.82 < t_{0.05}$, $P > 0.05$), 说明磁珠分选对弓形虫速殖子活性无明显影响, 见表 2。

表2 速殖子 MTS 活性检测各孔吸光度值 ($\bar{x} \pm s$)

项目	吸光度值
空白组	0.0397 ± 0.0032
磁珠分离前速殖子悬液	0.0487 ± 0.0006
磁珠分离后速殖子悬液	0.0483 ± 0.0006

2.7 不同方法获得虫体的毒力比较 不同方法获得的弓形虫速殖子经腹腔接种昆明种小鼠, 磁珠分离前速殖子接种的小鼠中 5 只 9 d 死亡, 1 只 8.9 d

死亡; 磁珠分离后速殖子接种的小鼠中 4 只 9 d 死亡, 2 只 9.1 d 死亡, 两组小鼠平均死亡时间均为 9 d, 死亡前均出现弓形虫急性感染的临床体征, 如弓背、竖毛、食量明显减少、腹部膨大, 腹水见大量的弓形虫速殖子和假包囊。

经统计学两样本均数 t 检验分析处理, 磁珠分离前后速殖子接种小鼠平均死亡天数差异无统计学意义 ($t = 1.86 < t_{0.05}$, $P > 0.05$), 说明磁珠分离对弓形虫速殖子毒力无明显影响。

3 讨论

在弓形虫免疫学诊断中, 纯净的速殖子是制备高质量抗原的保证。在弓形虫细胞生物学和分子生物学研究中, 高度纯化的速殖子也是实验的重要环节, 基因组学研究更需要去除宿主 DNA 的污染。而小鼠腹腔液和细胞培养液等标本中采集虫体常混有大量宿主细胞, 不利于后续研究。目前的纯化方法较多但结果均不理想, 例如胰蛋白酶纯化速殖子纯度较高但对其表膜成分有破坏作用, 并被透射电镜观察证实^[5]。杨杨等^[4]报道的纤维薄膜过滤法虫体回收率低至 48.6%, 细胞清除率也较低, 没有达到预期的效果。故采用一种有效的速殖子纯化方法对弓形虫与弓形虫病防治研究具有重要的实用价值。

免疫磁珠是一种包被抗体的磁性微粒, 能特异性地与抗原物质 (细胞、蛋白质、细菌等) 结合形成免疫复合物, 在外加磁场的作用下被滞留, 从而与其他成分分离, 达到分离特异性生物细胞颗粒的目的, 且磁珠不影响被分离靶物质的生物学性状和功能^[10]。免疫磁珠分选技术广泛应用于细胞分离、免疫检测、生物大分子纯化及分子生物学等方面^[11], 也可用于微生物学检测^[12]及寄生虫相关研究, 如恶性疟原虫的分离^[13-14]、利什曼原虫的分离^[15]及隐

孢子虫的分离^[16]等。有研究^[17-18]报道采用此法对猫粪便中弓形虫包囊进行分选,该技术用于纯化弓形虫速殖子尚未见报道。

本研究用猫源弓形虫感染小鼠提取腹腔液,以常规方法制备弓形虫的可溶性抗原,并用所得抗原免疫家兔,制备兔抗弓形虫多克隆抗体,用羊抗兔 IgG 磁珠对弓形虫速殖子进行纯化,比较其纯度、回收率,并检测其毒力、活性有无改变。经免疫磁珠法分离速殖子后,其纯度达到 98.2%,细胞清除率为 96%,虫体回收率为 73.5%,较其他报道的纯化方法^[3-4]有显著提高,能有效去除宿主细胞,获得较纯的弓形虫速殖子,达到分选的目的。同时,免疫磁珠分离是一种物理纯化方法,动物实验提示对速殖子的毒力无显著改变,且对速殖子活性也无显著影响。磁珠孵育时间及温度对分选虫体纯度和回收率有影响,若温度较高或孵育时间较长,可能会导致非特异性物质的标记;反之,可能会导致回收率降低。采集的虫体浓度较高,磁珠能与之迅速结合并达到吸附平衡,孵育时间较短,不超过 30 min^[19]。缓冲液的 pH 值和离子强度对磁珠吸附抗体能力有影响^[20]。多克隆抗体特异性虽不及单克隆抗体,但能同时捕获多种靶物质以提高分离效率,且较易获得,成本较低^[21]。分离虫体的回收率高低与抗体的亲和力及磁珠的量有关^[22],需进一步优化条件。

本法操作简便快速,特异性高,不需要昂贵的仪器设备,仅需一个磁分离架,分离纯度高。即可正相(阳性)分选,亦可负相(阴性)分选。因此,免疫磁珠分离法与其他纯化方法相比有明显的优势,尤其对于混有大量宿主细胞污染的标本,更具应用价值。不足之处在于目前商品化磁珠制备难度较大,多为国外专利产品,价格较高。

参考文献

- [1] Miller C M, Boulter N R, Ikin R J, et al. The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii* [J]. Int J Parasitol, 2009, 39(1): 23-39.
- [2] 方正明,王升,苏斌涛,等.纤维素滤膜过滤法纯化弓形虫速殖子并制备可溶性抗原[J].中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(5): 329-31.
- [3] 杨秋林,许丽芳,伍和平.四种纯化弓形虫速殖子方法对虫体 RNA 影响的比较[J].右江民族医学院学报, 2006, 25(5): 825-6.
- [4] 杨杨,姜昌斌,杨惠珍.纯化弓形虫速殖子的两种物理方法的探讨[J].中国兽医寄生虫病, 1994, 2(1): 35-7.
- [5] 吴增强,杨秀珍,杨树森,等.胰蛋白酶消化法对弓形虫速殖子的影响[J].中国人兽共患病杂志, 1987, 3(1): 23-4.
- [6] 陈跃,许戈良,王保龙.抗原特异性调节性 T 细胞体外诱导扩增及其功能测定[J].安徽医科大学学报, 2006, 41(4): 553-5.
- [7] 张翰,周东辉,陈强,等.猫源弓形虫虫株的分离与鉴定[J].中国兽医科学, 2007, 37(2): 160-1.
- [8] 陈美,周克夫,赵卿,等. RH 株弓形虫抗原及高效价多克隆抗体的制备[J].厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(5): 726-9.
- [9] 周银娣.基于 IgY 的 ELISA 用于日本血吸虫病循环抗原的检测[J].安徽医科大学学报, 2008, 43(4): 372-6.
- [10] 王东升,张岩.抗体包被免疫磁珠的研制及其应用[J].细胞与分子免疫学杂志, 2001, 17(3): 296-7.
- [11] 于露,孙秀兰.免疫磁珠技术研究进展[J].粮食与油脂, 2011, 24(10): 17-9.
- [12] 何小曼.免疫磁珠分离技术在微生物学检测中的应用[J].中国生物制品学杂志, 2008, 21(11): 1030-2.
- [13] Arman M, Adams Y, Lindergard G, et al. A method for positive and negative selection of *Plasmodium falciparum* platelet-mediated clumping parasites and investigation of the role of CD36 [J]. PLoS One, 2013, 8(2): 55453.
- [14] Coronado L M, Tayler N M, Correa R, et al. Separation of *Plasmodium falciparum* late stage-infected erythrocytes by magnetic means [J]. J Vis Exp, 2013, 73(3): 50342.
- [15] Li L, Li J, Jin H, et al. Detection of *Leishmania donovani* infection using magnetic beads-based serum peptide profiling by MALDI-TOF MS in mice model [J]. Parasitol Res, 2012, 110(3): 1287-90.
- [16] Quintero-Betancourt W, Peele E R, Rose J B. *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis*: a review of laboratory methods for detection of these waterborne parasites [J]. J Microbiol Methods, 2002, 49(3): 209-24.
- [17] Dumètre A, Dardé M L. Immunomagnetic separation of *Toxoplasma gondii* oocysts using a monoclonal antibody directed against the oocyst wall [J]. J Microbiol Methods, 2005, 61(2): 209-17.
- [18] Dumètre A, Dardé M L. Detection of *Toxoplasma gondii* in water by an immunomagnetic separation method targeting the sporocysts [J]. Parasitol Res, 2007, 101(4): 989-96.
- [19] Hibi K, Abe A, Ohashi E, et al. Combination of immunomagnetic separation with flow cytometry for detection of *Listeria monocytogenes* [J]. Anal Chim Acta, 2006, 573-574(1): 158-63.
- [20] 熊齐荣,牛瑞江,解泉源,等.磁珠离子交换吸附法纯化兔血清中多克隆抗体的研究[J].食品科学, 2011, 32(13): 259-63.
- [21] 杨万,何苗.免疫磁珠分离技术在环境病原微生物检测中的应用[J].安全与环境学报, 2008, 8(6): 18-9.
- [22] 方璇,何金生,唐亚宁,等.免疫磁珠纯化人呼吸道合胞病毒 F 蛋白方法的建立[J].安徽医科大学学报, 2011, 46(8): 826-9.

核黄素联合紫外光灭活血小板悬液中的病毒及抑制细胞因子的实验研究

钟涛^{1,2}, 沈继龙¹, 许伟², 张循善², 卞茂红², 杨鹏²

摘要 目的 研究核黄素联合紫外光进行血小板病毒灭活的安全性、有效性及对血小板保存中白细胞释放细胞因子的抑制作用; 观察灭活后血小板体外各参数的变化。方法 实验组: 将人巨细胞病毒标准株(HCMV AD169)注入核黄素溶液, 混匀后加入到单采血小板中, 以一定辐照剂量的紫外光照射, 检测照射前后病毒滴度和照射后不同时间细胞因子的变化, 并观察体外血小板部分参数的变化。对照组: 为相同来源新鲜单采血小板, 同步检测其细胞因子的含量和血小板体外各参数。以植物凝集素(PHA)同步刺激两组血小板,

用ELISA法检测细胞因子的含量。结果 实验组经150 $\mu\text{mol/L}$ 的核黄素结合辐照剂量为1500 mJ/cm^2 的紫外光($250 < \lambda < 350 \text{ nm}$)照射10 min可有效灭活血小板中病毒; 对照组细胞因子含量随着保存时间的延长而显著增加; 实验组第3天和第5天的细胞因子含量相对于保存前(0 d)差异无统计学意义; 而在同一保存时间对照组中细胞因子含量高于实验组($P < 0.05$); 实验组和对照组血小板悬液经过PHA同步刺激后: 接受PHA刺激的对照组与未接受PHA刺激的对照组相比, 细胞因子含量显著增加($P < 0.05$); 而接受PHA刺激的实验组与未接受PHA刺激的实验组相比, 细胞因子含量无显著变化。结论 核黄素结合紫外光照射可以有效灭活血小板中病毒, 抑制血小板保存中白细胞释放细胞因子的能力, 而单采血小板体外诸参数和阴性对照比较无明显差异。

关键词 核黄素; 紫外光; 病毒灭活; 人类巨细胞病毒; 细胞因子; 植物凝集素

中图分类号 R 457.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)01-0013-05

2013-10-14 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30940067)

作者单位: ¹安徽医科大学病原生物学教研室, 合肥 230032

²安徽医科大学第一附属医院输血科, 合肥 230022

作者简介: 钟涛, 男, 主管技师, 硕士研究生;

沈继龙, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail:

shenjilong53@126.com

Immunomagnetic separation for purification of *Toxoplasma gondii* tachyzoites

Lou Yan^{1,2}, Shen Jilong¹, Cheng Weisheng¹, et al

(¹Dept of Pathogen Biology, Anhui Medical University Anhui Provincial Laboratory of Pathogen Biology and Anhui Key Laboratory of Zoonoses, Hefei 230032; ²Dept of Pathogen Biology and Immunology, Anhui Medical College, Hefei 230601)

Abstract Objective To obtain the highly purified tachyzoites without contamination of host cells and loss of parasite viability for the diverse purposes of *Toxoplasma* and toxoplasmosis approach. **Methods** The peritoneal fluids containing both parasites and redundant host cells were harvested from the mouse, that had been peritoneally inoculated with *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) Wh3 strain (genotype China 1). *T. gondii* soluble antigen was prepared and used to immunize rabbits to obtain polyclonal rabbit anti-*Toxoplasma* antibodies. The mouse peritoneal exudate containing parasites was subjected to the antibody-coated immunomagnetic beads. The purity, recovery, viability and virulence to mice were tested. **Results** Immunomagnetic separation technique gave rise to as high as 98.2% of the tachyzoites purity; the removal rate of host cells reached to 96% and the recovery rate of tachyzoites was 73.5%. The viability of tachyzoites was 95.6% when detected by the MTS kit of cell proliferation and toxicity detection, and no attenuation of viability and virulence to mice was noted. **Conclusion** A high purity of *T. gondii* tachyzoites are achieved by immunomagnetic technique and no negative impacts of the novel method on the parasites viability and virulence are found, suggesting that the immunomagnetic separation, which is fast and simple to carried out, might be a useful in the immune and molecular approach of *Toxoplasma* and toxoplasmosis.

Key words *Toxoplasma gondii*; tachyzoites; purification; immunomagnetic separation