サイズ排除クロマトグラフィー法

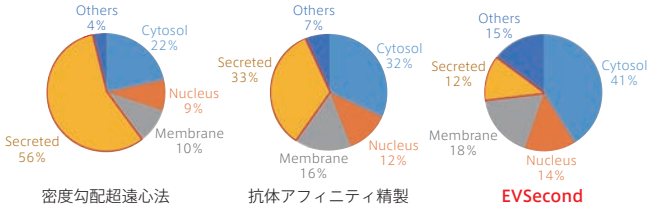
Web ページ番号 65503 検索

エクソソームを自然落下により精製するカラム

EVSecond

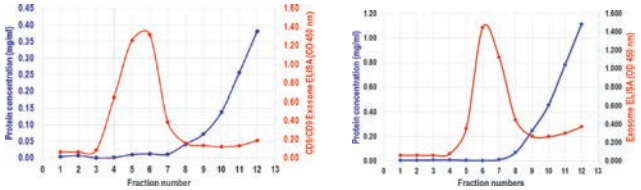
※EVSecond: Extracellular Vesicle Isolation by Size Exclusion Chromatography on Drip Column

血清・血漿・細胞培養上清などの試料から，自然落下でエクソソームを高純度精製するサイズ排除クロマトグラフィーカラムです。超遠心を行わず PBS で溶出を行うため，構造へのダメージがなく，精製したエクソソームは幅広いアプリケーションに使用できます。



従来法との比較

各方法によって精製されたエクソソームを LC/MS で分析を行い，同定されたタンパク質の細胞内局在を示した。EVSecond は，フリータンパク質（Secreted）の割合が少なく，精製度が高い手法であることが分かる。



ヒト血清からのエクソソームの単離

ヒト血清 200 µl から，EVSecond L70 または EVSecond を用いて 100 µl ずつ各溶出フラクションを回収した。いずれのカラムを用いても溶出のピークフラクションでアルブミンや IgG などの血清タンパク質とエクソソームが効果的に分離されており，高純度のエクソソームが得られたことが分かる。

赤：抗 CD9-抗 CD9 サンドイッチ ELISA によるエクソソーム溶出位置の確認
青：Bradford 法による血清フリータンパク質の溶出位置の確認

データご提供：公益社団法人がん研究会　植田幸嗣先生

特　長

- ゲルろ過により精製を行います。タンパク質よりも構造の大きいエクソソームが先に溶出します。
- 超遠心法やポリマー沈殿法に比べて，高純度のエクソソームが単離できます。
- 特定エクソソームの表面抗原に対する抗体を用いたアフィニティ精製法とは異なり，表面抗原のプロファイルの影響を受けないため，バイアスの少ないエクソソームが得られます。
- フリー RNA／タンパク質を効果的に除去できるため，網羅的 miRNA 解析や高感度プロテオーム解析に適しています。
- EVSecond L70 は，混和時間がより短く，また室温下で操作できるように改良されています。

品　名	EVSecond	EVSecond L70
操作環境	低温室	室温
使用前の転倒混和	数時間	数分程度
試料量	50～700 µl	50～1,500 µl
ブロッキング後の洗浄操作	PBS 700 µl×6 回	PBS 1,500 µl×3 回

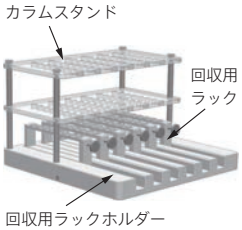
操作方法概略

1. 充填剤をよく混和してスタンドに設置し，保存液を捨てる。
2. FBS*でブロッキングし，その後 PBS で洗浄する。
3. 血清，血漿などの試料*をロードする。
4. PBS を適量流し，エクソソーム溶出画分を回収する。

*0.22 µm フィルター処理済みのものを使用して下さい。
※初回は抗 CD9-抗 CD63 サンドイッチ ELISA や，抗 CD9 ウェスタンブロッティングなどでエクソソームが溶出しているフラクションを確認して下さい。

品　名 メーカー	商品コード	包装 /	価格（¥）
EVSecond			
GLI	501021390	10 pieces /	44,000
GLI	501021392	25 pieces /	98,000
受注発注品。			
EVSecond L70			
GLI	501021395	10 pieces /	58,000

関連製品　EVSecond 専用ラック



- 通液や抽出液のフラクション回収が簡単に行えます。
- レバー操作で回収用チューブの切換が可能です。
- 高さ調整をすることで，EVSecond と EVSecond L70 の両方で使用可能です。

品　名 メーカー	商品コード	包装 /	価格（¥）
GL-SPE EXO Fraction Rack			
GLI	501050450	1 set /	147,000
サイズ：約 300^{W}×300^{D}×150～190^{H} mm			

ウェブにFAQ あります

Web ページ番号 65503 検索

ショ糖勾配超遠心法と比較して，純度と回収量は？
デモを実施したお客様の評価では，純度・回収量ともにショ糖勾配超遠心法より良好だったとのコメントをいただいています。

エクソソームの大きさに制限はありますか？
40～100 nm 程度であれば問題ありません。実験的に 100 nm 程度のエクソソームの回収を NanoSight により確認しています。原理的には 200 nm 程度のエクソソームの分離精製も可能と考えられます。

血清，血漿以外にも使えますか？
使用できますが，CSF（脳脊髄液）や培養上清などのエクソソーム濃度の低い試料は事前に濃縮する必要があります。

ブロッキングに使用する FBS 由来のエクソソームの影響はありませんか？
プロトコル通り PBS をカラムに通液することにより，FBS 由来のエクソソームが検出されないことを確認しています。

TEL 03-5684-1620　FAX 03-5684-1775　reagent@funakoshi.co.jp

試薬　価格・内容は発刊日現在です　掲載品はすべて研究用です