

グラム陰性菌の外膜小胞を単離するキット ExoBacteria OMV Isolation Kit

E. coli や *P. putida* などのグラム陰性菌の培養液から、外膜小胞 (Outer Membrane Vesicles, OMV) を単離するキットです。

超遠心分離に匹敵する純度・収量で、沈殿操作を用いずに重力式 (自然落下式) カラムにより、単離できます。

特長

- 1 時間以内に OMV を単離できます。
- 得られた OMV は、細菌間の情報伝達研究、感染症の発症機序研究、改変 OMV を用いたワクチン開発、がん治療、免疫応答の調節などの研究に有用です。
- 培養液 30 ml からの OMV 単離を 20 回行うのに十分な量の試薬とカラム類がキットには含まれています。

User's Voice

グラム陰性細菌の外膜小胞を単離するために超遠心機が不要で、簡単に短時間で精製できるので重宝しています。得られた膜小胞を用いたその後の実験結果にも満足しています。

大学ユーザー様



操作方法概略

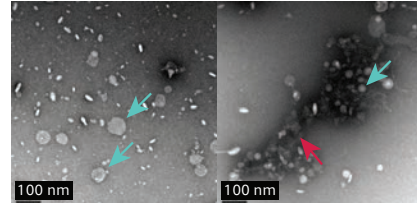
1. バクテリアの培養液を 5,000×g, 20 分, 4°C で 2 回遠心分離して、菌体・デブリを除去する。
2. 培養液上清を 0.45 μm および 0.22 μm の吸引フィルターでろ過する。
3. OMV binding resin のボトルを十分に攪拌した後、1 ml のレジンをピペットで Gravity flow column に加える。
4. 10 ml の Binding buffer をカラムに加えて平衡化し、カラム先端部のキャップを外し、フロースルーを廃棄する。
5. Column stopper をカラムの底部に取り付け、2. の培養液上清 30 ml をカラムに加えた後、カラムの上部に Column cap を取り付ける。
6. カラムを回転式ラックに設置し、4°C で 30 分間、攪拌しながらインキュベートする。
7. カラムをラックに設置し、上下の cap / stopper を取り外す。
8. 15 ml の Binding buffer での洗浄を 3 回行う。
9. Column stopper をカラムの底部に取り付け、1.5 ml の Elution buffer をカラムに加える。
10. 室温で 2 分間インキュベートし、その間、30 秒毎にカラムを穏やかに攪拌する。
11. Column stopper を取り外し、新しいマイクロ遠心チューブに OMV を溶出させる。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoBacteria OMV Isolation Kit (20 reactions)	SBI EXOBAC100A-1	1 kit / 99,000
キット内容: OMV binding resin, Binding buffer, Elution buffer, Gravity flow column, Column stopper, Column cap		

※別途、吸引フィルター (0.45 μm および 0.22 μm)、カラム用ラック (静置用、回転攪拌用) が必要です。

使用例

本製品で回収した OMV 超遠心法で回収した OMV



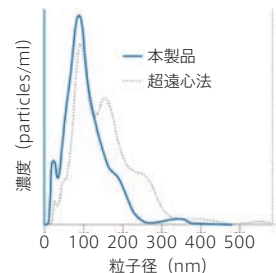
← : OMV ← : タンパク質凝集体

本製品および超遠心法で単離した *E. coli* 由来 OMV の透過型電子顕微鏡 (TEM) 像

それぞれの手法で得られた OMV (水色矢印) の外見は類似している。また、超遠心法では不要なタンパク質の凝集体 (赤色矢印) が見られる。

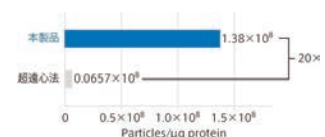
E. coli 由来 OMV の粒子径分布の比較

本製品および超遠心法で単離した *E. coli* 由来 OMV について、fNTA 法 (蛍光ナノ粒子トラッキング解析法) により粒子径分布を比較した。本製品の方が、粒子径分布が狭く、より均一な OMV を得られる。



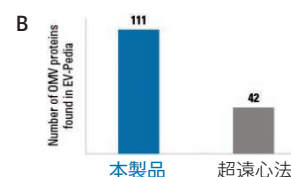
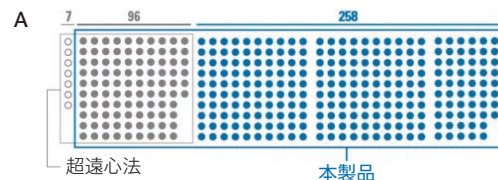
E. coli 由来 OMV の収量の比較

本製品では、超遠心法の約 20 倍の収量で OMV を得られる。



キャリアオーバータンパク質 (Flagellin) 量の比較

本製品または超遠心法で *E. coli* 由来 OMV を回収し、ウェスタンブロットングにより Flagellin および OMV のマーカーとして GroEL の検出を行った。本製品は超遠心法と比べて、OMV の収量が高く、Flagellin の量が少ないことがわかる。



単離した OMV に含まれるタンパク質の同定

- 得られた OMV を MS 解析して、含まれるタンパク質の同定を行った。本製品で単離した OMV のみから同定されたタンパク質が 258 種類、超遠心法で単離した OMV のみから同定されたタンパク質が 7 種類、双方の OMV から同定されたタンパク質が 96 種類となった。
- 同定されたタンパク質が EVpedia データベースに登録されているかを確認した。本製品で単離した OMV が、より特異性が高いことを示している。