



一般研究用キット

EV-Capture™ EV Purification Spin Column Kit

エクソソーム精製スピncラムキット

Cat. No. EVP01-010

2022年10月24日作成

www.cosmobio.co.jp

【I】背景と測定原理

細胞外小胞 (extracellular vesicle : EV) は細胞から放出される脂質二重膜を持つ粒子の総称で、細胞間の情報伝達に重要な役割を果たすとされ、盛んに研究されています。生体試料や培養上清から EV を精製する際には超遠心法が最もよく使われていますが、高額な設備と長時間の処理が必要となります。そのため、様々な代替法が開発されている反面、用途に応じて適切な方法を選択することが非常に重要になってきています。

本製品は EV 表面が負に帯電していることを利用して、EV を他の成分と分離します。小型卓上遠心機で使用可能なスピncラムタイプで、安価で容易にインタクトな EV を回収できます。回収した EV は粒子の確認、特長把握や機能解析等に利用可能です。

【II】キット構成

保存温度：常温

内容	数量	取扱上の注意
EV-Capture™ EV Purification Spin Column	10本	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。
2mL キャップレスチューブ	10本	
下蓋	10本	
サンプルバッファー (X10)	10 mL × 1本	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。
溶出バッファー	8 mL × 1本	

ご準備いただくもの（その他必要なもの）

- 小型卓上遠心分離機
- ローテーター
- Tween20

サンプルによっては回収率が低いことがあります。以降の実験に影響がない場合は溶出バッファーに終濃度 0.01% の Tween20 を添加することで回収率を高めることが可能です。

- マイクロチューブ

精製物を回収するチューブです。必要に応じて親水コートなどの低吸着チューブをご利用ください。

- 透析チューブまたは限外ろ過カラム

精製物には高濃度の塩が含まれています。必要に応じて透析または限外ろ過などで溶媒置換を行ってください。

【Ⅲ】 プロトコール

- ① サンプルバッファー（X10）を超純水で 10 倍希釈し、必要量のサンプルバッファーを調製する（用事調製）。
※サンプルバッファーは 1 サンプルあたり平衡化と洗浄処理に 4 mL 使用します。これにサンプル希釈に使用する量を合わせて必要量を計算してください。
- ② EV-Capture™ EV Purification Spin Column（以下カラム）の下部爪を折り、カラムに 2 mL キャップレスチューブをセットする。
- ③ 5000 rpm・15 秒程度遠心して保存液を除く。2 mL キャップレスチューブに回収した保存液は破棄する。
- ④ カラムの上蓋を外し、カラムに 2 mL キャップレスチューブをセットする。
- ⑤ カラムに溶出バッファーを 300 μ L 加え、ボルテックスミキサーなどで 10 秒間攪拌して溶出バッファーを樹脂になじませる。
- ⑥ 5000 rpm・15 秒程度遠心して溶出バッファーを除く。2 mL キャップレスチューブに回収した溶出バッファーは破棄する。

【Ⅲ】 プロトコール つづき

- ⑦ カラムに 2 mL キャップレスチューブをセットし、サンプルバッファを 500 μ L 加える。
- ⑧ 5000 rpm・15 秒程度遠心してサンプルバッファを除く。2 mL キャップレスチューブに回収したサンプルバッファは破棄する。
- ⑨ 7.～8. を合計 3 回行って樹脂を平衡化する。
- ⑩ 下蓋を付けてからサンプルを添加し、上蓋を閉める。
※サンプルは目的とする粒子サイズに応じた回転数（通常 2000～10000rpm 程度）で遠心分離した上清を使用してください。
※サンプル遠心上清は目的とする粒子サイズに応じたフィルターを通してから使用ください。
※サンプルの pH が 9 を超えると回収率が低下する可能性があります。中和するかサンプルバッファで希釈してからアプライしてください。
※サンプルアプライ量は 300 μ L～700 μ L になるよう調整してください。
※血清などのタンパク質濃度が高いサンプルはサンプルバッファで 2～6 倍に希釈してからアプライしてください。
※血清サンプルの場合は正味アプライ量が 200 μ L を超えると回収率が低下することを確認しています。
- ⑪ 手でカラムを持って上下に混和し、樹脂を均一に分散させる。
- ⑫ 室温で 10～15 分ローテートする。
- ⑬ 下蓋を破棄し、カラムに 2 mL キャップレスチューブをセットする。
- ⑭ 5000 rpm・15 秒程度遠心してフロースルー画分を除く。2 mL キャップレスチューブに回収したフロースルー画分は破棄する。
- ⑮ 上蓋を外し、カラムに 2 mL キャップレスチューブをセットしてサンプルバッファを 500 μ L 加える。
- ⑯ 上蓋を閉め、ボルテックスミキサーなどで 10 秒間攪拌する。
- ⑰ 5000 rpm・15 秒程度遠心してサンプルバッファを除く。2 mL キャップレスチューブに回収したサンプルバッファは破棄する。
- ⑱ 15.～17. を合計 2 回行う。



【Ⅲ】 プロトコール つづき

- ⑱ 上蓋を外し、カラムに2 mL キャップレスチューブをセットしてサンプルバッファを500 μ L 加える。
- ⑳ 5000 rpm・15 秒程度遠心してサンプルバッファを除く。2 mL キャップレスチューブに回収したサンプルバッファは破棄する。
- ㉑ 19.～20. を合計3 回行って樹脂を洗浄する。
※上蓋やカラム壁に樹脂が付着した場合は樹脂をカラム底に落とすように洗浄してください。
- ㉒ 2 mL キャップレスチューブを破棄し、カラムに精製物回収用のマイクロチューブをセットする。
- ㉓ 溶出バッファを150 μ L 加える。
※溶出バッファに終濃度0.01%のTween20を加えることで回収率が向上する場合があります。
- ㉔ ボルテックスミキサーなどで10 秒間攪拌して溶出バッファを樹脂になじませる。
- ㉕ 5000 rpm・30 秒程度遠心して精製物を回収する。
- ㉖ 23.～25. を合計2 回行って回収したものを精製物とする。
※精製物に樹脂片が混入することがあります。ナノ粒子トラッキング解析などに使用する場合には精製物の遠心上清をご使用ください。

実施例は web で公開中です。

弊社ホームページ (<http://www.cosmobio.co.jp>) 内の検索、または検索サイトより、「EV-Capture」と入力し、検索ください。

本商品をご利用になられた文献、発表データを募っております。

本商品をご利用いただき投稿された論文、学会発表/パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付方法

郵 送

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
コスモ・バイオ株式会社 製品情報部 宛

E-mail

tech@cosmobio.co.jp ※ PDF ファイルにてお送りください。

