



Application

MPCポリマー※コーティングによる細胞由来エクソソームの回収率の向上

※MPCポリマー：生体膜構成成分であるリン脂質と同じ構造（ホスホリルコリン基）を有するポリマー

製品名	MPCポリマー含有コーティング試薬 FastGene™ NovyCoat (FG-NVC100)
メーカー名	日本ジェネティクス株式会社
製品名	フロア型超遠心機 Optima Xシリーズ
メーカー名	ベックマン・コールター株式会社

下記のデータは、公益財団法人がん研究会がん研究所 蛋白創製研究部 部長 芝清隆 様、および日油株式会社様のご厚意により掲載させていただきました。

はじめに

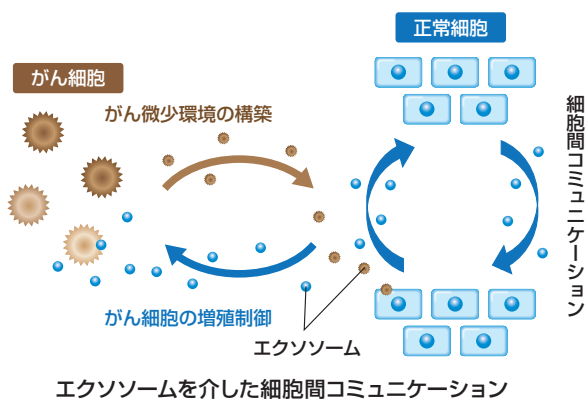
エクソソームは細胞から放出される脂質二重膜の小胞で、細胞と細胞はこのエクソソームを介し、核酸やタンパク質などの物質交換を行い、細胞間でコミュニケーションを取ることが分かっています。

このため、エクソソームに含まれるmiRNAやタンパク質などを解析することで、新たな診断マーカーとして、がんなどの各種疾患の診断や治療への応用が期待され、注目が集まっております。

反面、エクソソームは非常に微小で、また、容器やチップなどへ吸着しやすいためロスを生じやすく、単離・精製が困難となっています。

このため、より安定的で効果的な単離・精製方法の確立が求められています。

本アプリケーションノートでは、MPCポリマー含有コーティング試薬 FastGene™ NovyCoatを用いたコーティングによりエクソソームの吸着を抑制し、エクソソームの回収率を向上した事例についてご紹介します。



方法および結果

1. MPCポリマー（FastGene™ NovyCoat）コーティングによるエクソソーム吸着抑制効果の確認

方法

基材（ポリスチレン）をMPCポリマーにディップしてコーティング

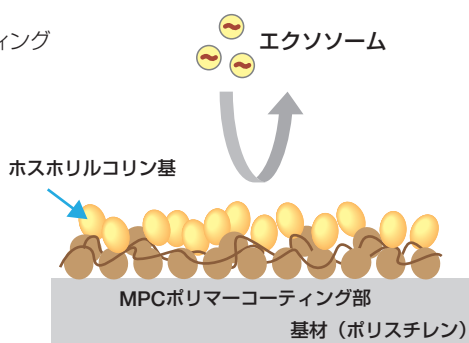
↓
室温で乾燥

↓
がん細胞株（ヒト）の培養上清からエクソソームを精製

↓
基材をエクソソーム溶液に接触

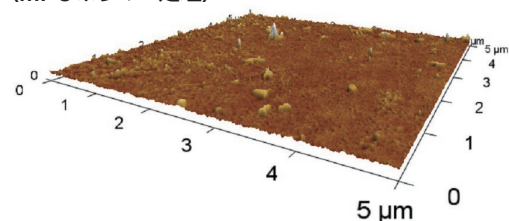
↓
PBSで洗浄

↓
AFM（原子間力顕微鏡）で観察

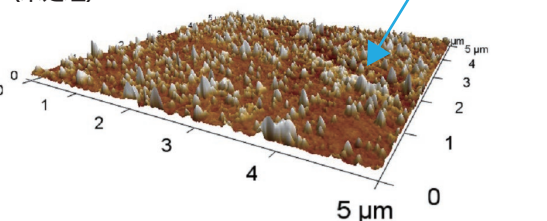


結果

〈MPCポリマー処理〉



〈未処理〉

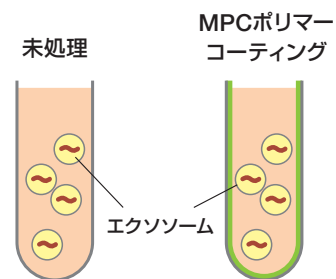


MPCポリマーをコーティングすることで基材表面へのエクソソーム吸着を抑制できた。

2. MPCポリマー (FastGene™ NovyCoat) コーティングによるエクソソームの回収率向上の効果検証

方法

MPCポリマーを超遠心分離用遠沈管にコーティング
 ↓
 室温で乾燥
 ↓
 がん細胞株 (ヒト) の培養上清からエクソソームの粗精製液を調製
 ↓
 超遠心機Optima X (ベックマン・コールター社製) で超遠心分離
 161,000 x g (30,700rpm) 120分間
 ↓
 NanoSight (Malvern Panalytical社製) で回収粒子数を測定



超遠心分離

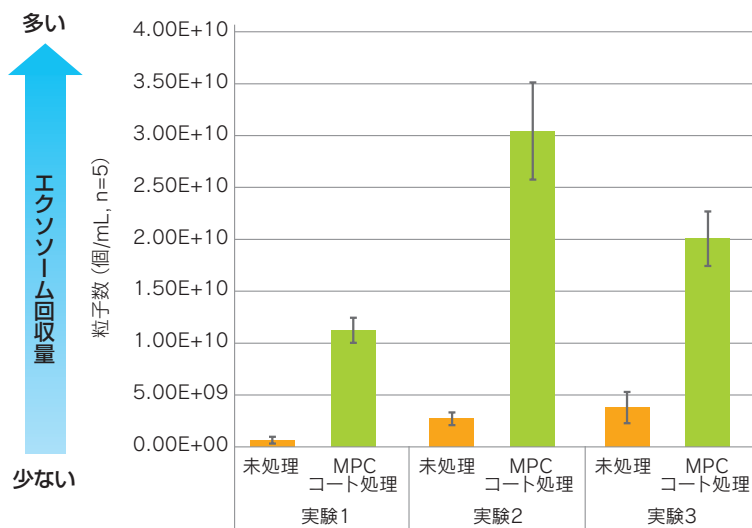
フロア型超遠心機
Optima Xシリーズ



スウィングロータ
SW 32 Ti



結果



MPCポリマー (FastGene™ NovyCoat) のコーティングにより、遠沈管へのエクソソーム吸着が抑制され、回収量が増加した。



お客様のコメント

エクソソーム、あるいは細胞外分泌小胞の取り扱いでは、精製度が上がるにつれて、チューブへの非特異的吸着が問題となってきます。

「大切なサンプルがいつのまにかどこかについてしまった」といった苦い経験をお持ちの方も多いと思いますが、用いるチューブの表面の性質を変えることで、この問題を解決できるようです。

Ordering information

製品番号	製品名	容量	価格 (税抜)
FG-NVC100	FastGene™ NovyCoat	100mL	¥29,800