

エクソソーム精製を想定した OptiPrep™ 密度勾配遠心法

CP-NX シリーズ超遠心機 / P32ST 形スイングロータ

エクソソームは直径 50~150nm 程度の脂質二重膜で形成されている小胞で、血液、唾液、尿、羊水等の体液や細胞培養液中に存在します。

近年、エクソソームには様々なタンパク質や RNA (mRNA、miRNA) が含まれていることが報告され、細胞間コミュニケーションの役割を担っている可能性が示唆されています。この性質を利用して、バイオマーカーや標的治療のツールとしての開発が盛んに行われています。

高純度エクソソームの精製には、密度勾配液を使用した超遠心分離法が有効です。本報告では、エクソソーム精製を想定した OptiPrep™ 密度勾配遠心法についてご紹介致します。

内容

1. 実験条件

遠心機 : CP100NX 形超遠心機

ロータ/チューブ : P32ST 形スイングロータ / 40PET チューブ

遠心速度 : 24,000rpm

最大遠心加速度 : 100,000×g

遠心時間 : 18 時間

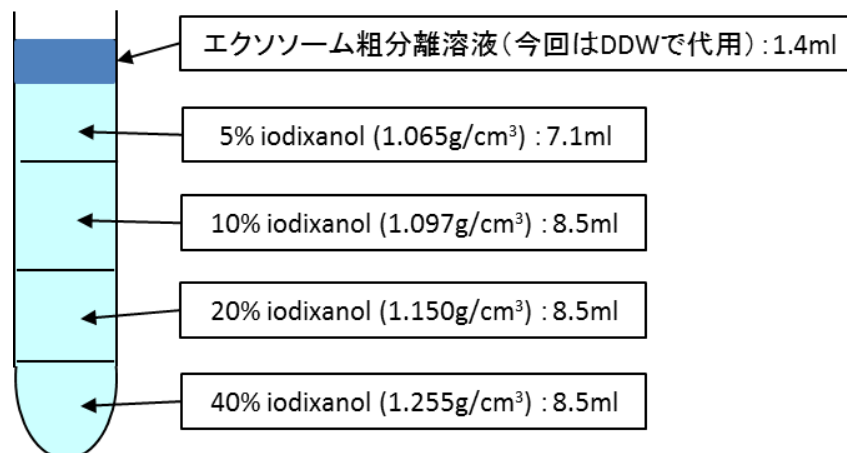
加速/減速 : “7” / “7”

温度 : 4°C

密度勾配液 : OptiPrep™ (AXIS-SHIELD PoC AS) [60% iodixanol 溶液 (1.32g/cm³)]

↓
0.25M Sucrose in 30mM Tris-HCl を用いて希釈し、5, 10, 20, 40% 溶液を作製する

↓
下図のように、40PET チューブに OptiPrep™ 密度勾配を作製する



回収法 : チューブ上部から 2ml ずつ 17 分画する

2. 結果及び考察

・図 1 は OptiPrep™ 密度勾配遠心法による密度勾配の様子であり、密度勾配カーブが形成されていることが確認できた。

・エクソソームは密度 1.15~1.19g/cm³ 中に存在することが知られており^{1)~3)}、フラクション No.12 と No.13 にエクソソームが分画されると考える。

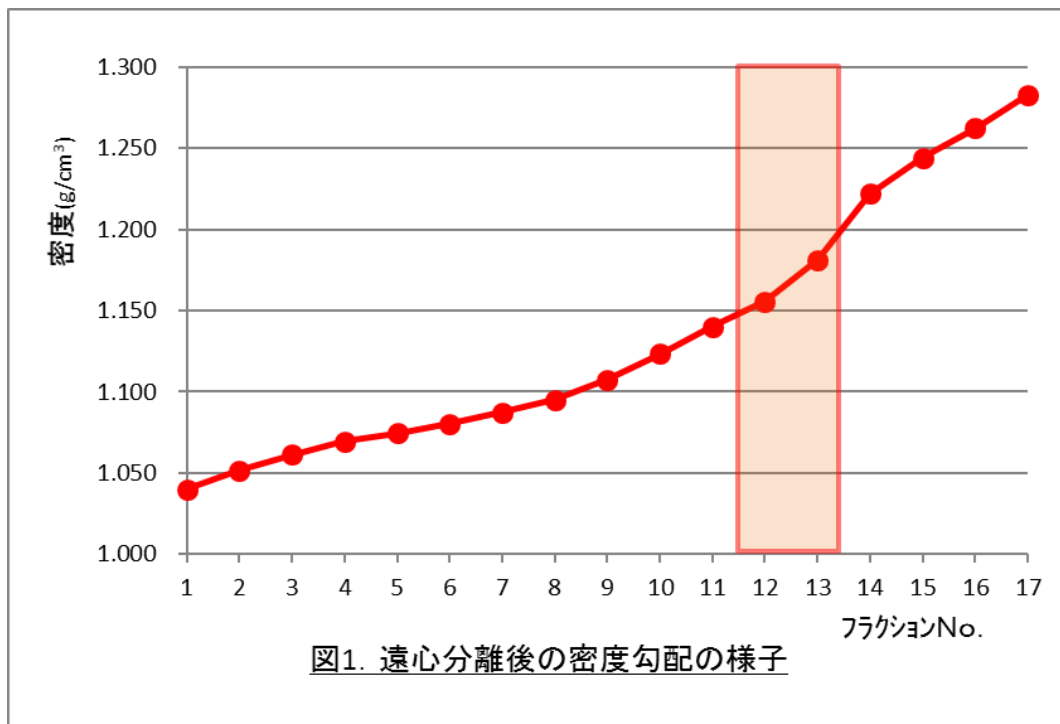


図1. 遠心分離後の密度勾配の様子

- 参考文献 1) kalra H, et al. (2013) *Proteomics*, 133, 354-3364.
 2) Ji H, et al. (2013) *Proteomics*, 13:1672-1686.
 3) Thery C, et al. (2006) *Curr Protoc Cell Biol*, Chapter 3, Unit 3.22.

装置



CP100NX 形超遠心機



P32ST 形スイングロータ



↑
 詳細情報はここから

本資料に関するお問い合わせは日立工機(株)のホームページ
 (<http://www.hitachi-koki.co.jp/contact/>) からお願い致します。

首都圏地区 (東北、甲信越を含む)	東京都港区港南二丁目 15 番 1 号 品川インターシティ A 棟 18F	03-6738-0860
北海道地区	北海道札幌市厚別区厚別中央 3 条一丁目 2-20	011-896-1748
中部地区	愛知県名古屋市西区則武新町 1-32-16	052-533-0522
関西地区 (鳥取・岡山・京都・四国を含む)	兵庫県西宮市津門大筒町 10-20	0798-23-4125
九州地区 (広島・島根・山口を含む)	福岡県福岡市東区松島四丁目 8-5	092-622-4025