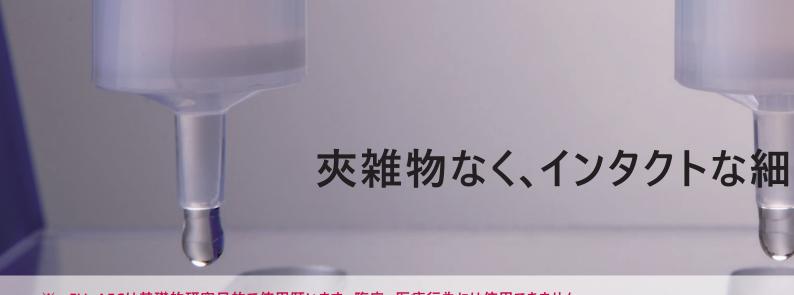


### qEV 細胞外小胞抽出キット AFC qEVオートフラクションコレクター

製品カタログ 2023年 4月現在



meiwafosis.com

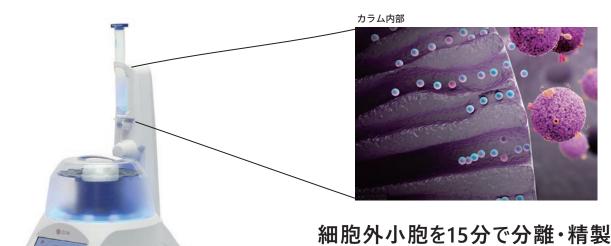


※ qEV, AFCは基礎的研究目的で使用願います。臨床、医療行為には使用できません。

# 日本で唯一!ISO規格取得のEV抽出キット

## インタクトな細胞外小胞(EV)を抽出

医療機器の品質マネジメント国際標準規格ISO13485を取得



AFC (qEVオートフラクションコレクター)

### 細胞外小胞の研究を 加速させるqEV抽出

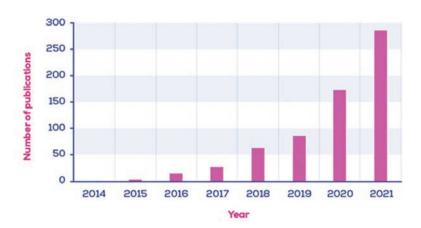
qEV カラムは、2015 年から 2021 年にかけて 650 以上の出版物で使用されています。 qEV分離によって可能になった研究の最新情報を入手するには以下のwebサイトもしくはQRコードから弊社のニュースレターにご登録ください。 定期的に論文情報を含む最新情報をお届けいたします。

#### ▼ニュースレター登録



https://meiwanet.co.jp/lettter-form

# カラム内部にはアガロース樹脂のメッシュがあり、そのメッシュの表面には無数の小さな穴が開いています。適正抽出サイズより大きな粒子はメッシュで遮られるため通過が遅れます。また、適正抽出サイズより小さな粒子はメッシュ表面の穴に入るため、通過が遅れます。マニュアル通りのタイミングで回収することで、15分の抽出時間で誰でも簡単に細胞外小胞の抽出が行えます。



qEVの文献数推移 2014 年~2021年までに公開された文献数をまとめたグラフです。



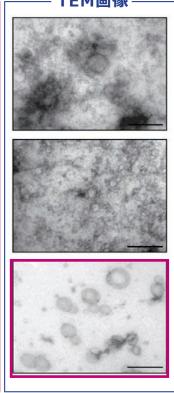
### 夾雑物を取り除き細胞外小胞本来の カップ型形状を損なうことなく抽出

抽出したサンプルのサイズ分布はいずれも、細胞外小胞のサイズ範囲内の粒子を検出しています。ポリマー沈殿法と密度勾配沈殿法の手法では、粒子が多く存在していますが電子顕微鏡で画像を確認すると、細胞外小胞以外の不純物が多く含まれていることがわかります。

# 高回収率で不要な タンパク質は除去

粒子/蛋白質割合によると、qEVを使用した結果が良好です。 他の手法では、汚染タンパク質も共同分離を行っていることがわかります。

### TRPS 測定 -A 手法(ポリマー沈殿法製品) 6.0x1012 4.0x1012 2.0x1012 100 150 200 250 300 Particle diameter (nm) B手法(分離カラム製品) 6.0x1012 4.0x1012 Concentration 2.0x1012 100 150 200 250 300 Particle diameter (nm) 6.0x1012 4.0x1012 2.0x1012 100 150 200 250 300 Particle diameter (nm)



#### 

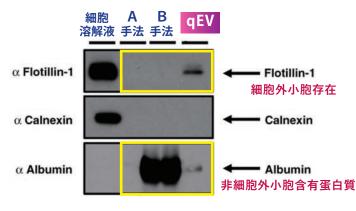
#### 正確に細胞外小胞の 粒子のみを回収

50μgの蛋白質の「Western blot」解析によると、3つのメソッドにおいても 「Calnexin」の存在は見られませんでした。しかし、細胞外小胞の存在を示す、「Flotillin-1」については、qEVの結果でのみ検出されました。 他の手法の結果では非細胞外小胞含有蛋白質の存在は、大量の「Albumin」の存在によって判明しましたが、「Albumin」は、qEVサンプルではほとんど見られませんでした。

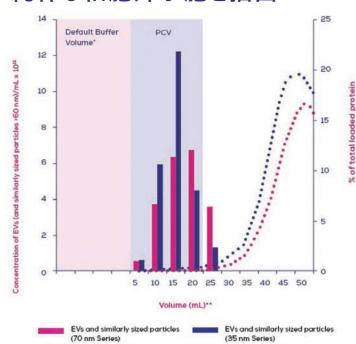
#### 【 qEVと他手法との細胞外小胞抽出比較参考文献 】

Richard J. Lobb; Melanie Becker; Shu Wen Wen; Christina S. F. Wong; Adrian P. Wiegmans; Antoine Leimgruber; and Andreas MÖller. Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma.

Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma Journal of Extracellular Vesicles. 2015, 4: 27031



### 純粋な細胞外小胞を抽出



qEVカラムは、EV含有サンプルからの可溶性タンパク質の除去に非常に効果的です。このことは、EV以外のコンポーネントの共分離がダウンストリーム分析の精度に影響を与え、その後、結果をゆがめる可能性があるため、特に重要です。

qEVは、幅広いカラムサイズで可溶性タンパク質からのEVの分離を最大化するように最適化されています。Gen2 qEVカラムは、この高分解能分離を可能にする独自の高性能樹脂で構築されています。

10mLのヒト血漿をロードした、qEV 10/35 nm (Gen 2)と qEV 10/70 nm (Gen 2)カラム間の総タンパク質溶出レベルと細胞外小胞および同様のサイズの粒子 > 60 nmの濃度の比較です。EV濃度は、ビシンコニン酸 (BCA) アッセイによる Exoid およびタンパク質レベルを使用して測定されました。

#### ※注意

qEV10/35nm Gen 2 (23.2mL)カラムと、qEV10 / 70nm Gen 2 (22.9mL)カラムでは、デフォルトのパッファー量の値が異なります。

\*\*容量はそのサンプルの最大容量としてラベル付けされています。

ラベル [5] は パッファー容量後の0.0~5.0 mLの容量を指し、ラベル [10] は パッファー容量後の5.0~10.0 mLの容量を指します。

### 再現性

• • • • Protein (70 nm Series)

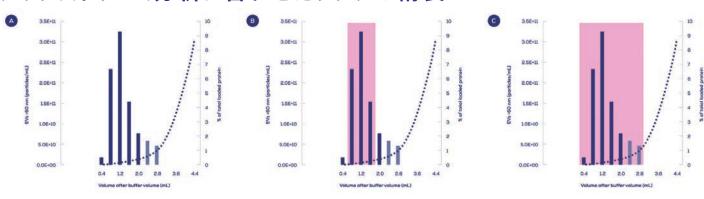
最適化および標準化されたカラムであるqEVカラムは、研究内および研究間で同じ分離アプローチを使用することで、再現性を向上させます。対照的に、多くのEV分離アプローチは、手動の方法(例えば、超遠心分離(UC)、密度勾配遠心分離、および自家製のSECカラム)に広く依存しており、これらの方法の再現性の低さは広く文書化されています。例えば、EV収量の量的な違いは、UCの機器とオペレーターに依存する、技術的変動の両方によるものと考えられています。密度ベースの分離方法はUC自体に依存しているため、同じ変動源を共有しています。

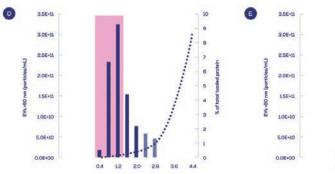
一方、カラム作成の「DIY」ルートは、高度な最適化(およびその後の時間)、リソース、およびスキルを必要とする効率的で標準化されたカラムの作成で、不必要なエラーの可能性をもたらします。

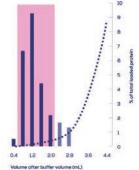


### ダウンストリーム分析に合わせたサンプル精製

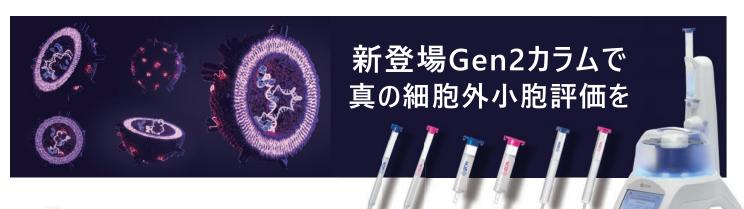
• • • • Protein (35 nm Series)

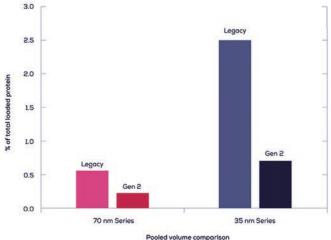






精製された抽出液量(PCV)の純度が高まることには、もう一つの大きなメリットがあります。分離が改善されたことで、より多くのフラクションからEVのみを抽出することができ、新しいレベルのコントロールが可能になりました。また、抽出後の分析目的に合わせて、異なるPCVを選択することができます。





### さらに多くの夾雑タンパク質を除去

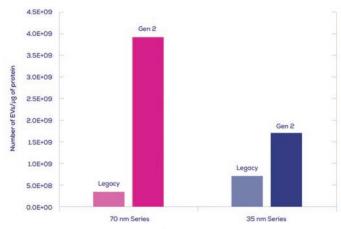
Gen2カラムに使用されている独自の樹脂は、左図に示すように、ロードされたサンプルか らより多くのタンパク質を除去することができます。左図は、AFCオートフラクションコレク ターを使用して分離したヒト血漿サンプル (2mL) に含まれるタンパク質を、アプライさ れたタンパク質全体に対する割合を示しています。

タンパク質はビシンコニン酸アッセイ(BCA)で測定しました。70nmシリーズおよび35nm シリーズのqEVoriginalLegacyカラムおよびGen2qEVoriginalカラムのデータを示してい ます。(0.5mLのローディングボリューム)

#### 細胞外小胞の真のタンパク評価

Tunabl Resistive Pulse Sensing (TRPS法)とビシンコニン酸アッセイ(BCA)でそれぞ れ測定したタンパク質1μgあたりの細胞外小胞(EV)の数を示しています。

右図は、IZONのAFC(オートフラクションコレクター)と、70nmおよび35nmシリーズの qEV original カラム (ロードボリューム0.5mL)を用いて、分離したヒト血漿サンプルに ついて示しています。Gen2カラムでは分離が強化されているため、より精製されたEV含有 サンプルを得ることができます。



Pooled volume comparison

### マイルド抽出でインタクトEV抽出

超遠心機による分離はEVを強い重力にさらすため、EVは分解、凝集、融合しやすくなりますが、 qEVカラムは穏やかなアプローチを提供します。SECベースのqEVカラムは、無傷で機能的なEVの分離を可能にします。

Higher functionality of extracellular vesicles isolated using size-exclusion chromatography compared to ultracentrifugation. Mol FA Goumans M.I. Doevendans PA Sluiter JPG Vader P. Nanomedicine:Nanotechnology,Biology and Medicine.

2017;13(6):2061-2065.doi:10. 1016/j.nano.2017.03.011

High-speed centrifugation induces aggregation of extracellular vesicles Linares R. Tan S. Gounou C. Arraud N. Brisson AR.

Journal of Extracellular Vesicles.

2015;4(1):29509.doi:10.3402/jev.v4.29509



### EV抽出は15分以内に

qEVカラムの簡便で迅速な性質により、qEV分離は最も 一般的なEV分離方法の1つです。qEVカラムをAFC(オート フラクションコレクター)と一緒に使用すると、効率、再現性 がさらに向上します。AFCは、分離プロセスをガイドし、自 動容量測定と収集の貴重な要素を導入します。AFCを使 用すると分離が発生している間も他の作業を進めることが できるため、1日の貴重な時間を節約できます。

#### AFC (qEV オートフラクションコレクター) 仕様

タッチスクリーンサイズ	5 インチ(解像度 800 x 480 px)
平均抽出時間	10 ~ 15 分 (qEV カラムによる)
ユーザーに提供されるデータ	カラムタイプ、使用可能回数
重量(kg)	1.2
装置寸法(mm)	W250×D300×H400



### Gen2カラムがフルラインナップ

#### qEV / 35nm



35~350nm 最適な回収範囲



<110nm 110 nm未満のEV回収率が高い



エクソソーム領域のEV精製に 培養上清に最適

### qEV/70nm



70~1000nm 最適な回収範囲



>110nm

110nmを超えるEVの高い回収率



リポタンパク質のオーバーラップが少ない 血漿を扱う場合



	qEV single		qEV original		qEV 1		qEV2		qEV10		qEV100	
	qEV single35	qEV single70	qEV orignal35	qEV original70	qEV1 35	qEV1 70	qEV2 35	qEV2 70	qEV10 35	qEV10 70	qEV100 35	qEV100 70
抽出サイズ 領域	35~350nm	70~1,000nm	35~350nm	70~1,000nm	35~350nm	70~1,000nm	35~350nm	70~1,000nm	35~350nm	70~1,000nm	35~350nm	70~1,000nm
サンプル容量	150	$\mu$ L	500 μ L		1mL		2mL		10mL		100mL	
Column Volume	3.0	mL	8.5	mL	13.5	5 mL	45.1 mL		69.3mL		600mL	
フラクション サイズ	0.17	' mL	0.4 mL		0.7 mL		2 mL		5 mL		50mL	
使用回数	1		5回									
カラム種類	Gen 2, Legacy Gen 2, Legacy		Gen 2		Gen2, Legacy		Gen 2, Legacy		Gen 2, Legacy			
AFC使用	使用可能						使用不可					

### qEV濃縮キット

EV含有サンプルを濃縮するためのシンプルで便利なキットです。qEVで抽出したEVの分析によっては、qEVカラムから抽出後に濃縮ステップが必要になる場合があります。qEV濃縮キットを使用すると、EVを含むサンプルをダウンストリーム処理に便利な量に濃縮することができます。

#### ・qEVで抽出したインタクトなEVを濃縮

収集ボリュームの範囲を集中します。

EV濃度は、 $600 \, \mu L \, \text{から} 20 \, \text{mL} \, \Omega$ 範囲の精製されたコレクションボリュームで達成できます。

#### ・サンプルをダウンストリーム処理に最適な量に濃縮

サンプルをペレットに変換し適切な量に濃縮できます。

- ・ウェスタンブロッティング、質量分析、またはqEVRNA抽出キットを使用した RNA抽出後の分析などに対応
- ・キットには5mLの濃縮用粒子が含まれています。濃縮するサンプル量によって 必要な濃縮用粒子の量は異なります。



精製に使用する qEVカラム	サンプル量 (mL)	qEV濃縮キットの 必要量(µL)
qEV single	0.60~0.80	50.0
qEV original	1.5~3.0	100.0
qEV2	6.0~8.0	150.0
qEV10	10.0~20.0	200.0

#### qEV RNA抽出キット

#### ・シンプルで標準化可能な高収量のRNA抽出キット

qEV RNA抽出キットを使用すると、細胞外小胞 (EV) が豊富なサンプルから高品質のRNAを抽出できます。

#### ・EVからの迅速なRNA抽出

RNA の抽出は 15 ~ 20 分以内に完了

シンプルなカラムベースのろ過システムにより、サンプルの希釈を最小限に抑えた高収率な ろ過が可能です。

#### ・溶出量

抽出したRNAは、50~100μL の溶出量で回収できます。 その後のアプリケーションに応じて、サンプル量や濃度を最適化できます。

#### ・様々なアプリケーションとの互換性

抽出されたRNAは、qPCR、マイクロアレイ、および次世代シーケンシングのアプリケーションに使用して、疾患の進行を評価、治療反応を監視、新薬または環境化学物質のリスク評価できます。

#### ・生体液を含む様々なサンプルに適しています

このキットは、血漿や尿などの生体液や in vitro 細胞培養上清から得られる単離 EV から質と量に優れた RNA を抽出することができます。

qEV RNA抽出キットは、qEV濃縮キットと一緒に使用することも、必要に応じて個別に使用することも可能です。50サンプル分が含まれています。



サンプルの種類 生体液と細胞培養培地(条件有)

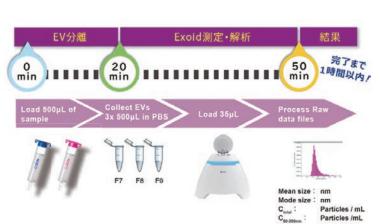
精製されたRNAの種類 miRNA を分離し、GC含有量による偏りがありません。

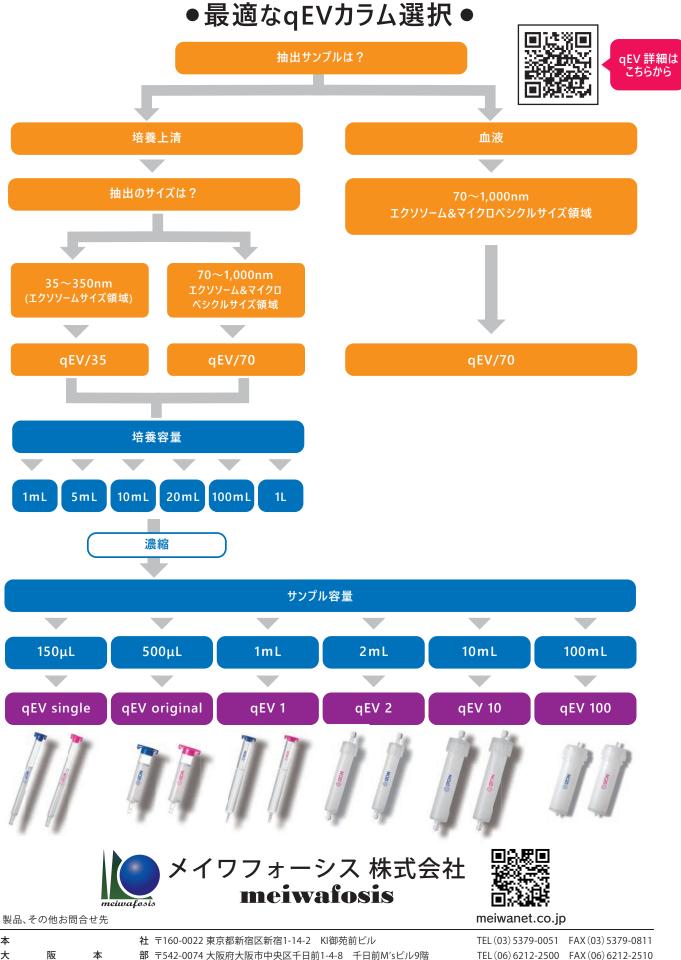
フェノールフリー RNA 解析に影響を与える危険な化学物質 であるフェノールを含まない

### 1時間未満で 精製から解析までトータルにご提案

細胞外小胞は生物性の流体で、量的な分析を行う前に、複雑なバックグラウンドタンパク質を除外する必要があります。qEVを使用することで、迅速に浄化することが可能です。qEVはサイズ排除クロマトグラフィーの手法を使用し、凝集 せずに 急速で高い 浄化をすることによって、容易に費用 対効果が高い作業が行えます。

通常EVの分離は数時間~1日以上かかりますが、qEVでは15分の短時間で抽出が完了します。その後、Exoid (ナノ粒子マルチアナライザー)、VIDEO DROP (ナノ粒子イメージングアナライザー)、NanoFCM (フローナノアナライザー)を使用することで、計測までの全体手順 (精製+解析) は1時間未満で簡単に完了することができます。





本 大 名 古 仙

所 〒464-0075 愛知県名古屋市千種区内山3-10-18 PPビル3階

所 〒981-3133 宮城県仙台市泉区泉中央1-28-22 プレジデントシティビル3階 TEL(022)218-0560 FAX(022)218-0561

TEL (052) 854-7500 FAX (052) 686-5114

**ク ノ ロ ジ ー ラ** ボ 〒135-0064 東京都江東区青海2-4-10 東京都立産業技術研究センター 製品開発支援ラボ318

慶應義塾大学-メイワフォーシス ナノ粒子計測技術ラボ<sup>〒223-8522</sup>神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1 慶應義塾大学矢上キャンパス 理工学部中央試験所 36棟213号室 京都工芸繊維大学-メイワフォーシス 〒606-8585 京都府京都市左京区松ヶ崎橋上町 京都工芸繊維大学松ヶ崎キャンパス オープンファシリティーセンター 表 面 解 析 ユ ニ ッ ト 表面解析ユニット 16号館 307号室