

## エクソソーム凍結保護・吸着防止試薬

# EV-Save™ 細胞外小胞ブロッキング試薬

EV-Save™細胞外小胞ブロッキング試薬は、細胞外小胞（EVs）の凍結保護およびチューブやピペットチップといった実験器具への吸着を抑制する試薬です。当社では、**医薬品添加剤として使用実績のある成分のみを使用したin vivo用EV-Save™**もラインナップしております。

### 特長

- EVsを凍結から保護・・・細胞外小胞の-80℃保管が可能に！  
エクソソームは凍結融解を繰り返すと損傷することが知られています（Steffi, B. et al. Scientific Reports, 6, 36162 (2016)）。
- 培養上清中および精製後EVsの実験器具への吸着を抑制・・・EVsの回収効率UP！
- サンプルに添加するだけの簡単操作

### 製品情報

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格（円）
058-09261	EV-Save™細胞外小胞ブロッキング試薬 	遺伝子研究用	1mL	9,800
050-09461	in vivo用 EV-Save™細胞外小胞ブロッキング試薬 			12,800

### 適用アプリケーション

以下の実験で、EVsの解析に問題が無いことを確認しています。

1. Nanoparticle Tracking Analysis (NTA)
2. ELISA
3. 細胞へのEV添加実験
4. ウェスタンブロット※1
5. マイクロアレイ解析※1

※1 EV-Save™（製品コードNo. 058-09261）のみ適用を確認しています。

- 血清・血漿や夾雑物が多いサンプルに本製品を使用した場合、吸着防止効果は得られにくくなります。
- EV-Save™にはポリマーが含まれています。後工程でポリマーが実験結果に影響を与える恐れがある場合、本製品のご使用を控えてください。
- EV-Save™と蛍光色素を併用した場合、バックグラウンドの上昇が確認されることがあります。

### EV-Save™とin vivo用 EV-Save™ の比較

	EV-Save™ (製品コードNo. 058-09261)	in vivo用EV-Save™ (製品コードNo. 050-09461)
体外への排出	データなし	排出可能とされる分子量の成分のみを採用
医薬品添加剤としての使用実績	なし	あり
動物実験への使用	データなし	可能
限外ろ過への適用	可能	不可

## 使用方法 【EV-Save, *in vivo*用 EV-Save共通】

### ■ MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS Ver.2 (製品コードNo. 290-84103) 使用

#### 細胞培養上清からEVsを単離する場合

1. EV-Save™もしくは*in vivo*用EV-Save™を細胞培養上清へ100倍希釈となるように添加し、転倒混和あるいはタッピングで混合する。
2. MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS Ver.2 (V2.0キット) の説明書に記載の“5. 細胞外小胞結合ビーズの洗浄”まで実験を進める。
3. V2.0キットに付属している“Exosome Elution Buffer”にEV-Save™もしくは*in vivo*用EV-Save™を100倍希釈となるように添加し、転倒混和あるいはタッピングで混合する。
4. V2.0キットの説明書に記載の“6. 細胞外小胞の溶出”から実験を再開し、EVsを溶出する。
5. 溶出した細胞外小胞を保管※2、もしくは次の実験に進む。

#### 血清、血漿からEVsを単離する場合

1. V2.0キットの説明書に記載の“5. 細胞外小胞結合ビーズの洗浄”まで実験を進める。
2. V2.0キットに付属している“Exosome Elution Buffer”にEV-Save™もしくは*in vivo*用EV-Save™を100倍希釈となるように添加し、転倒混和あるいはタッピングで混合する。
3. V2.0キットの説明書に記載の“6. 細胞外小胞の溶出”から実験を再開し、EVsを溶出する。
4. 溶出した細胞外小胞を保管※2、もしくは次の実験に進む。

### ■ 他の単離方法を使用

#### 細胞培養上清からEVsを単離する場合

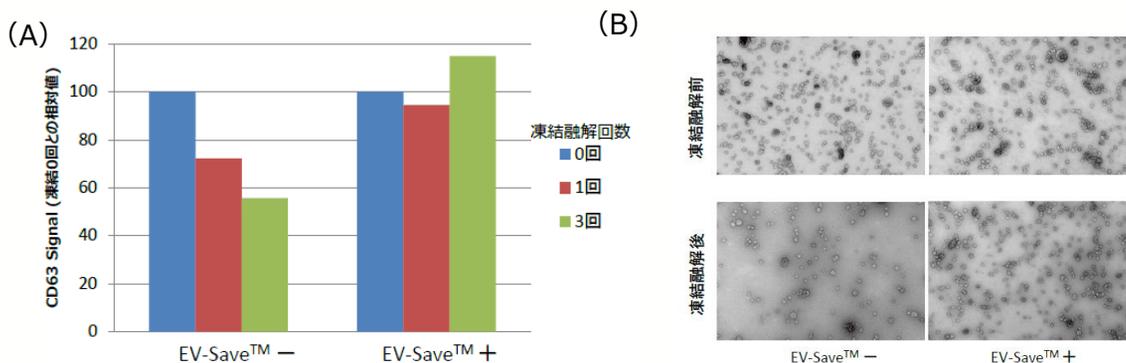
1. EV-Save™もしくは*in vivo*用EV-Save™を細胞培養上清へ100倍希釈となるよう添加し、転倒混和あるいはタッピングで混合する。
2. 単離した細胞外小胞へEV-Save™を100倍希釈となるように添加し、転倒混和あるいはタッピングで混合する。
3. 細胞外小胞を保管する※2、もしくは次の実験へ進む。

※2 本品を添加していれば-20℃以下での凍結保存が可能です。ただし過度な凍結融解の繰り返しは避けてください。

## EV-Save™ アプリケーションデータ

### (1) エクソソーム凍結保護効果

PSアフィニティー法※3で精製したCOLO201細胞由来エクソソームを凍結融解後、PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD) (製品コードNo. 297-79201) による測定 (A)、および透過型電子顕微鏡 (TEM) による解析(B)を実施し、EV-Save™の添加によりエクソソームの損傷を抑制できるか検討した。

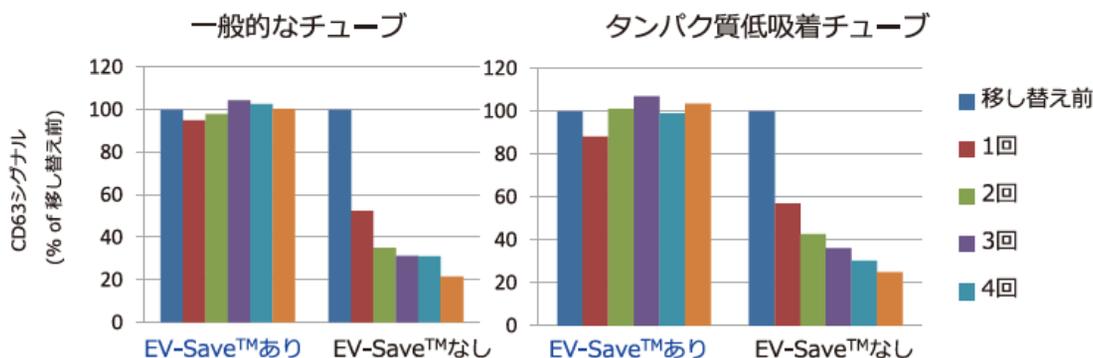


凍結融解によりエクソソームマーカーであるCD63のシグナルは低下したが、このシグナル低下はEV-Save™添加により抑制された (A)。さらに電子顕微鏡解析による結果から、凍結融解により粒子数の顕著な減少が生じることが確認されたが、このような現象に対してもEV-Save™添加による抑制効果が認められた (B)。

※3 ホスファチジルセリン (PS) 結合分子を用いて細胞外小胞を金属イオン依存的に捕捉した後、キレート剤により溶出する方法。MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS Ver.2の使用により、本手法でのEV精製が行えます。

## (2) チューブへのエクソソーム吸着抑制効果

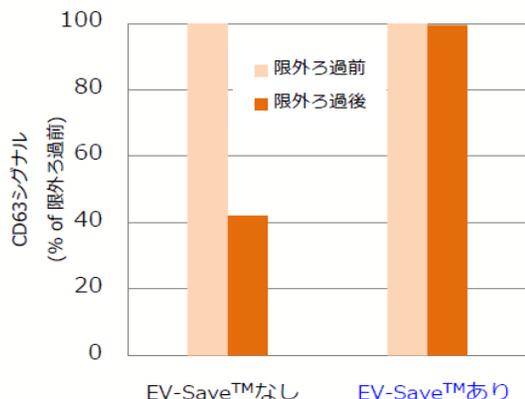
PSアフィニティー法<sup>※3</sup>で精製したCOLO201細胞由来エクソソームをチューブに添加し静置後、別のチューブに移し替える作業を4回繰り返した。「EV-Save™あり」の条件は液量に対し1/100希釈となるようにEV-Save™を最初に添加した。PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD)を用いて、エクソソームのCD63シグナルを測定し、移し替え回数によるエクソソームの減少率を調べた。移し替え前のCD63シグナルを100 %として相対値をグラフに示した。



一般的なチューブおよびタンパク質低吸着チューブのどちらにおいても、チューブを移し替えることでエクソソーム量 (CD63シグナル) は減少した。しかしEV-Save™を添加することで、チューブ移し替えによるエクソソームの減少をほぼ完全に抑制できた。

## (3) 限外ろ過時におけるエクソソーム吸着抑制効果

ヒトiPS細胞培養上清の限外ろ過(Vivaspin 20分画, 分子量100K)濃縮の前後でエクソソームがロスしているか調べた。

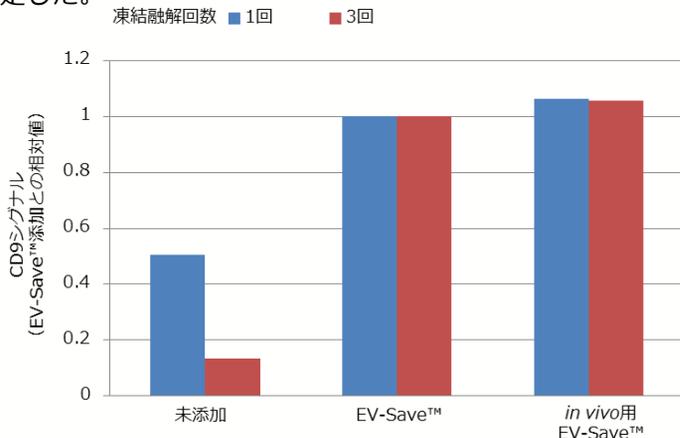


培養上清中のエクソソーム量 (CD63シグナル) は、限外ろ過により約60 %減少したが、EV-Save™の添加によりほぼ完全に抑制できた。

## in vivo用 EV-Save™ アプリケーションデータ

### (1) エクソソームの凍結保護効果

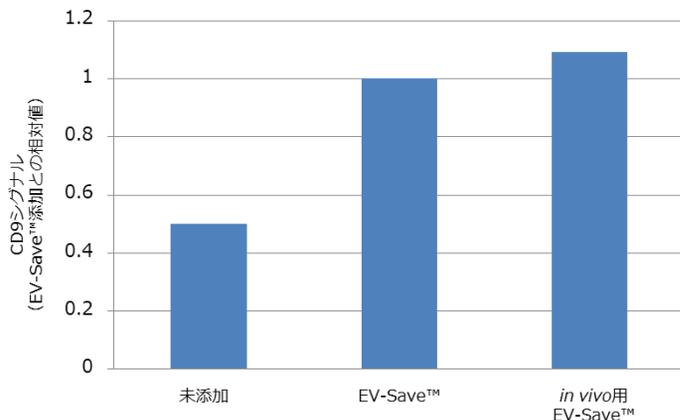
EV-Save™およびin vivo用 EV-Save™ をPSアフィニティー法<sup>※3</sup>により精製したCOLO201細胞由来エクソソームに添加し、1回もしくは3回凍結融解を繰り返した。その後、サンプルチューブ内のエクソソーム量をPS Capture™ Exosome ELISA Kit (ストレプトアビジンHRP) (製品コードNo. 298-80601) により測定した。



EV-Save™未添加の場合、凍結融解によりエクソソームマーカーであるCD9シグナルは低下したが、このシグナル低下はEV-Save™およびin vivo用 EV-Save™を添加することにより抑制された。

## (2) エクソソームの吸着抑制効果

EV-Save™および*in vivo*用 EV-Save™ をPSアフィニティー法※3により精製したCOLO201細胞由来エクソソームに添加し、16時間、4℃で保管した。その後、サンプルチューブ内のエクソソーム量をPS Capture™ Exosome ELISA Kit (ストレプトアビジンHRP) により測定した。



EV-Save™未添加の場合、エクソソーム量 (CD9シグナル) は低下したが、これはEV-Save™および*in vivo*用 EV-Save™を添加することにより抑制された。

## 関連製品

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格 (円)
294-84101	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS Ver.2	遺伝子研究用	2回用	20,000
290-84103			10回用	80,000
297-79201	PS Capture™ エクソソームELISAキット(抗マウスIgG POD)	遺伝子研究用	96回用	58,000
298-80601	PS Capture™ エクソソームELISAキット(ストレプトアビジンHRP)	遺伝子研究用	96回用	58,000

エクソソーム関連製品情報や学術コンテンツを弊社HPで紹介中！

和光 エクソソーム

検索 🔍



Ref…2～10℃保存  F…-20℃保存  -80…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。  
 特定  I…特定毒物  II…毒物  III…劇物  毒薬  劇薬  危険物  向精神薬  特定麻薬向精神薬原料  カルタヘナ法  
 1…化審法 第一種特定化学物質  2…化審法 第二種特定化学物質  化R1…化学兵器禁止法 第一種指定物質  化R2…化学兵器禁止法 第二種指定物質  
 覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。寛  
 国民保護法…生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。海保等  
 上記以外の法律及び最新情報は、弊社試薬サイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com>) をご参照下さい。

- 本文に収載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

## 富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)  
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所 ● 中国営業所
- 東海営業所 ● 横浜営業所
- 筑波営業所 ● 東北営業所
- 北海道営業所



フリーダイヤル 0120-052-099

試薬URL: <https://labchem-wako.fujifilm.com>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation  
 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA  
 TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791

■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH  
 Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany  
 TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100

■ 富士フイルム和光 (香港) 有限公司  
 Room 1111, 11/F, International Trade Centre,  
 11-19 Sha Tsui Road, Tsuen Wan, N.T., Hong Kong  
 TEL: +852-2799-9019 FAX: +852-2799-9808

■ 富士フイルム和光 (広州) 貿易有限公司  
 广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002-3003室  
 TEL: +86-20-8732-6381 (广州)  
 TEL: +86-21-6288-4751 (上海)  
 TEL: +86-10-6413-6388 (北京)