

その他の体液サンプルからのエクソソーム回収: Total Exosome Isolation (from other body fluids)(Cat#4484453) を用いた濃縮・回収

脳脊髄液(CSF)、腹水、羊水、母乳、唾サンプルにおいて、以下の最適化されたプロトコールを用いて簡便にエクソソームを回収することが可能です。

推奨するスタート量は
0.2~1mL

(サンプルの前処理)

1. 血清サンプルを処理まで氷中に置く
凍結血清を使用の場合は、25~37°Cのwater bath中で完全に融解させ、氷中に置く
2. 遠心(2000xg)で細胞や細胞デブリスをペレット化する。なお遠心の温度・時間はサンプルによって異なるので、注意

体液サンプル	温度、時間
脳脊髄液(CFS)	4°C、30分間
腹水	室温、30分間
羊水	4°C、30分間
母乳	室温、10分間
唾	室温、10分間

3. 新しいチューブに上清を移す(ペレットが混入しないように注意)
 - 腹水・唾サンプルは、“エクソソーム濃縮・回収”ステップで進む
 - CFS、羊水、母乳サンプルは以下のステップ4の処理を行ってから、“エクソソーム濃縮・回収”ステップで進む
4. CFS、羊水、母乳サンプルは、追加の遠心処理(10,000xg)を以下の条件で繰り返し、細胞デブリスがきれいに除去された上清を新しいチューブへ移す

体液サンプル	温度、時間	
	2回目遠心	3回目遠心
CFS	4°C、30分間	—
羊水	4°C、30分間	—
母乳*	室温、30分間	室温、10分間

* 母乳サンプルの場合、中間層のみを新しいチューブに分取する。また回収の際に上層やペレット層を崩さないようにする。この層にはエクソソーム回収のクオリティ低下の原因とする成分が含まれている。

重要!
母乳は最上層ではなく、
中間層のみを回収します

(エクソソームの濃縮・回収)

1. 前処理した体液サンプル量に対して以下の液量のTotal Exosome Isolation (from other body fluids) reagent.を添加し、全体が均一になるまでよくミックスする

体液サンプル	Reagent量
脳脊髄液(CFS)	1倍量(等量)
腹水	0.5倍量(1/2量)
羊水	0.2倍量(1/5量)
母乳*	0.5倍量(1/2量)
唾	0.5倍量(1/2量)

* 母乳サンプルは、Reagentを添加する前に、サンプルと等量の1xPBSを添加しておく。Reagentの添加量は、サンプルとPBSを合わせた液量に対して0.5倍量添加する。

【例】200 μ Lの母乳サンプルの場合、まず等量1xPBS(200 μ L)を添加する。Reagentは全量400 μ Lの0.5倍量である200 μ Lを添加する。

2. 1のmixtureをインキュベートする。インキュベーションの条件はサンプルによって異なるので注意すること

体液サンプル	温度/時間
脳脊髄液(CFS)	2~8 $^{\circ}$ C、1時間
腹水	室温、30分間
羊水	室温、30分間
母乳	室温、30分間
唾	2~8 $^{\circ}$ C、1時間

3. 遠心処理(10,000xg)。遠心温度・時間はサンプルによって異なるので注意すること

体液サンプル	温度/時間
脳脊髄液(CFS)	2~8 $^{\circ}$ C、1時間
腹水	室温、10分間
羊水	2~8 $^{\circ}$ C、1時間
母乳	室温、10分間
唾	2~8 $^{\circ}$ C、1時間



次ページのステップ4へ進む

- 上清をきれいに排除する。エクソソームはペレット化されて回収される
注意： エクソソームペレットは目視で確認できないことがあるので注意すること
- （オプション） 上清が残ってしまった場合は、再度遠心処理（10,000xg、5分間、室温）し、さらに残った上清をきれいに除去する

（エクソソームの再懸濁）

- ペレットを1 x PBSまたは後のアプリケーションに使用するbufferでしっかりと懸濁する（Vortex処理またはペッティング）。添加するbuffer量は以下を参考のこと

体液サンプル	スタートサンプル量 （前処理後）	1xPBS量 （またはbuffer量）
脳脊髄液（CFS）	700μL	50～75μL
腹水	200μL	25～50μL
羊水	200μL	25～50μL
母乳	200μL	25～50μL
唾	500μL	25～50μL

- エクソソームをしっかりと懸濁後、
 - 腹水・羊水・唾サンプルは、以下のステップ5へ進む
 - CFS、母乳サンプルは、以下のステップ3から処理を進める
- 遠心処理（10,000xg、5分間、室温）
- 新しいチューブに上清を移す（ペレットが混入しないように注意）
- エクソソームの保存
 - 2～8℃で最大1週間保存可能
 - 長期保存の場合は、-20℃以下で保存

重要！
 CFS,母乳のきょう雑物の除去に重要な追加ステップです。スキップしないでください