

EV 精製キット「EXORPTION」の評価

— 健常人血清を用いた EV 精製手法の比較検討 —

落谷 孝広 Takahiro Ochiya

東京医科大学 医学総合研究所 特任教授



細胞外小胞 (Extracellular Vesicles: EV) は、細胞から放出されるナノサイズの膜小胞であり、タンパク質や核酸など多様な分子情報を内包して体液中を循環する存在である。血液をはじめとする体液から取得でき、細胞や組織の状態変化を反映し得ることから、疾患バイオマーカーとしての活用が注目されている。また、EV を利用したドラッグデリバリー等も含め、医薬品・検査薬への応用が期待されている。近年は実用化を見据えた研究が盛んであり、基礎研究から臨床応用に向けた開発まで幅広い取り組みが進んでいる。

EV を研究・評価するためには、EV を含むサンプルから EV を分離、精製する前処理が不可欠である。一方で、体液中には EV 以外にも多様な成分が存在し、分離・精製条件の違いは回収量や純度、測定結果に影響し得る。とくに検査用途では、前処理のばらつきが測定値のばらつきに直結し、結果の解釈や比較可能性を左右する。したがって、精度良い検査のためには、目的とする EV を再現性よく得られる精製手法の確立が重要である。

本検討では、三洋化成工業株式会社製 EV 精製キット EXORPTION と、代表的な EV 精製手法 (超遠心法、ポリマー沈殿法、限外ろ過法、SEC (サイズ排除クロマトグラフィー)、TFF (タンジェンシャルフローろ過)、アフィニティ法) の計 7 手法について比較を行った。サンプルは健常人血清とし、各手法で 100 μ L の血清から EV を 5 回繰り返し精製した。得られた EV 精製液を、コスモバイオ社の CD9 / CD63 ELISA キット (EXH0102EL) で定量した。



図 1. 「EXORPTION」の外観
(三洋化成工業株式会社製)

本 ELISA は CD9/CD63 両陽性 EV を検出対象とし、最終的な出力は pg/mL として得られる。これらの定量値に基づき、各手法の変動係数 (CV) を算出して再現性を評価した。

上記の検討条件において、EXORPTION の CV は 9.1% であり、比較した 7 手法の中で最も低い CV 値を示した。EV の診断応用や研究利用においては、前処理

工程の再現性は測定結果の信頼性に影響を与える重要な要素である。本検討では、EXORPTION は比較対象とした手法の中で低い CV 値を示し、再現性が確認された。本検討結果は、EV 精製手法を選択する際の一つの参考情報となることが期待される。

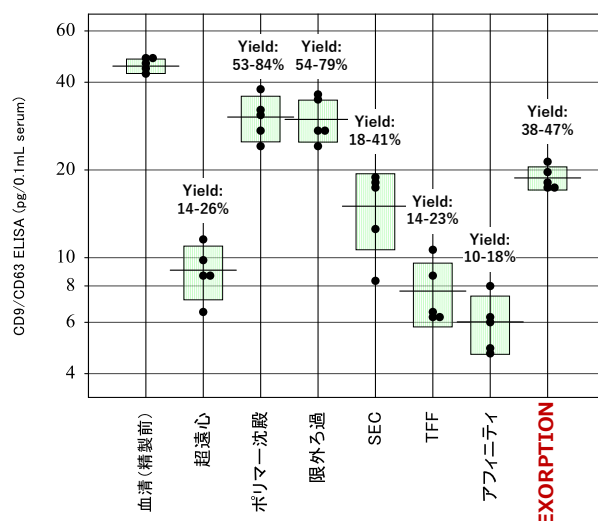


図 2. 各 EV 精製手法で得られた CD9/CD63 両陽性 EV 量 (pg/mL) の分布 (n=5)

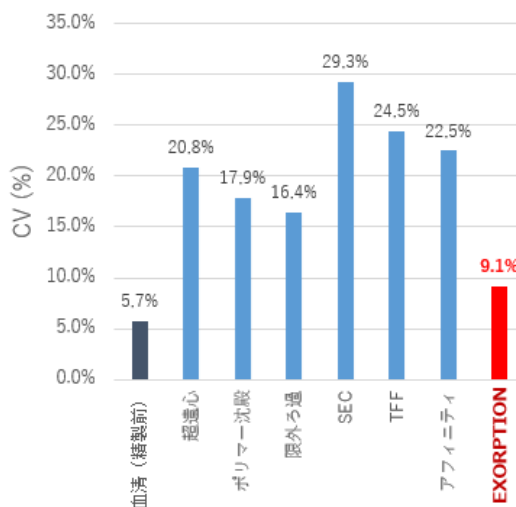


図 3. 各 EV 精製手法における再現性 (CV%) の比較
(健常人血清 100 μ L, n=5)

- ・筆者は三洋化成工業株式会社とアドバイザー契約を締結した上で本評価を監修いたしました。
- ・本資料は研究用途における特定の条件下での評価結果を紹介するものです。製品の性能を保証するものではありません。
- ・本製品は研究用です。医療・臨床診断用途には使用できません。