

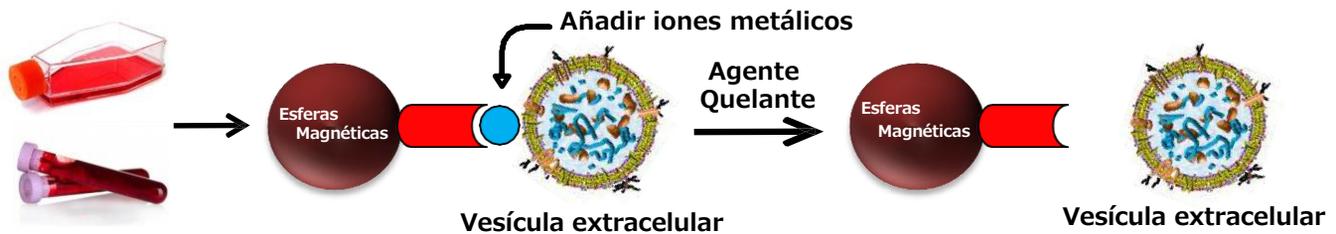
Aislamiento de vesículas extracelulares de alta pureza por método de afinidad PS

**MagCapture™**

# Kit de Exosomas PS

## Principio

**Un método novedoso basado en la afinidad con fosfatidilserina (PS) en la superficie de vesículas extracelulares**



## Características

*Exosomas de alta pureza*

*Fácil operación*

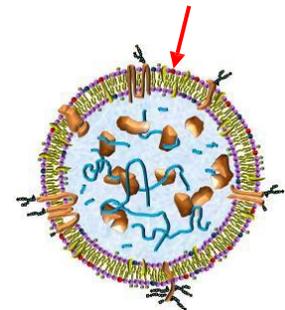
*Alta reproducibilidad*

*Exosomas intactos*

## Comparación con otros métodos de purificación

Métodos	Pureza	Cantidad recuperada	Intacto
Método de afinidad de PS	■ ■ ■	■ ■ ■	Si
Ultracentrifugación	■ ■	■ ■	Si
Precipitación basada en polímeros	■	■ ■ ■	Si
Método de afinidad con el anticuerpo contra el antígeno de superficie del exosoma	■ ■ ■	■ ■	Si

**Fosfatidil Serina (PS)**



**Tipo de muestra:** Sobrenadante de Cultivo Celular, Suero, Plasma, Orina, etc.

Nombre del Producto	Tamaño del paquete	Número de catálogo	Almacenamiento
Kit de aislamiento de exosomas MagCapture™ PS	2 purificaciones* <sup>1</sup>	299-77603	Mantener entre 2-10°C
	10 purificaciones* <sup>1</sup>	293-77601	

\* 1 **Las esferas inmovilizadas que capturan los exosomas** pueden ser recicladas hasta 4 veces. El kit tiene suficiente cantidad de reactivos en caso de que se realice el reciclaje. Cuando se requieren hacer aislamientos repetidos de vesículas extracelulares de la misma muestra, intente el reciclaje. Sin embargo, cuando se requieren aislamientos repetidos de vesículas extracelulares de **diferentes tipos de muestras**, no intente el reciclaje para evitar la contaminación.

## Comparación del rendimiento de exosomas aislados del suero humano normal

Los exosomas se aislaron del suero humano normal mediante el uso de **MagCapture™**, el método de ultracentrifugación y afinidad con anticuerpo contra el antígeno de superficie del exosoma, seguido de Western Blot con los anticuerpos anti-CD9 y anti-CD63.

CD9, CD63 and CD81 son Marcadores de Exosomas



Línea 1: Ultracentrifugación

Línea 2: **MagCapture™**

Línea 3: Reactivo de aislamiento de exosomas con anticuerpo CD9 [Proveedor A]

Línea 4: Reactivo de aislamiento de exosomas con anticuerpo CD63 [Proveedor A]

Línea 5: Reactivo de aislamiento de exosomas con anticuerpo CD81 [Proveedor A]

Línea 6: Reactivo de aislamiento de exosomas con anticuerpos [Proveedor A] (Mezcla de Esferas de anticuerpos CD9, CD63, CD81 y EpCAM)

La señal de cada línea corresponde a 150  $\mu$ L de muestra de suero. 15  $\mu$ L de eluato y 5  $\mu$ L de muestra buffer de 4 x SDS fueron mezcladas y repartidas en cada celda.

El rendimiento de extracción de exosomas mediante **MagCapture™** es mayor que los realizados mediante los métodos de ultracentrifugación y anticuerpos.



## Comparación del rendimiento entre los métodos convencionales de aislamiento de exosomas

El rendimiento y la pureza se compararon con exosomas aislados del sobrenadante de cultivo celular de células K562 (Leucemia humana mielógena crónica : CML) mediante el uso de **MagCapture™**, ultracentrifugación y el método de precipitación basada en polímeros. El sobrenadante del cultivo celular se preparó a partir de medio libre de suero, o del medio 10% FBS reducido de exosomas.

### MagCapture™ Kit para aislamiento de Exosomas PS

Los Exosomas fueron recuperados con el Kit **MagCapture™** de 1 mL de sobrenadante de cultivo celular pretratado (10,000 x g, 30 min) de células K562 (medio libre de suero o medio 10% FBS reducido de exosomas). Se utilizó el protocolo estándar (tiempo de reacción: 3 horas)

### Ultracentrifugación

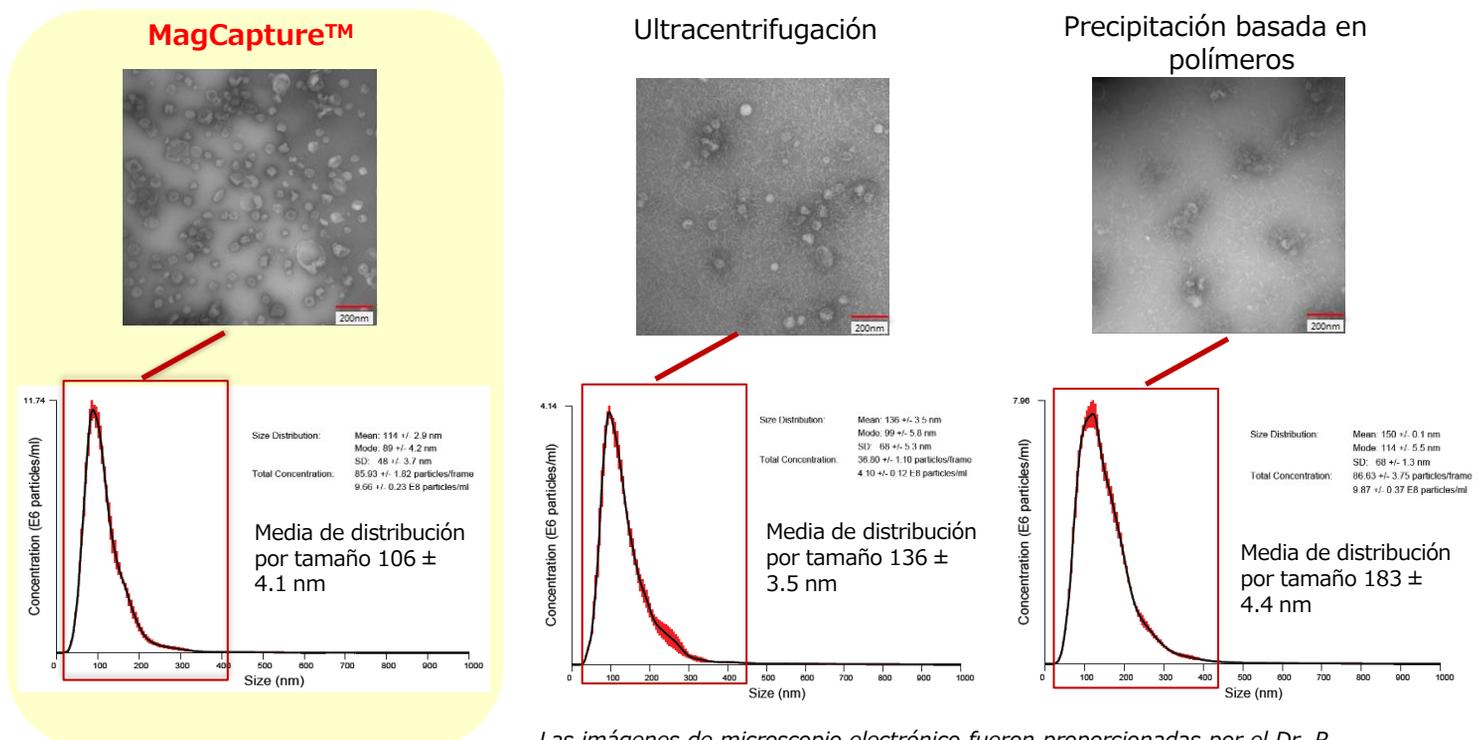
10 mL de sobrenadante de cultivo celular pretratado (10,000 x g, 30 min.) de células K562 (medio libre de suero o medio 10% FBS reducido de exosomas) fueron ultracentrifugados a 110,000 x g, 70 min. El precipitado fue suspendido en TBS. Luego, la suspensión fue ultracentrifugada nuevamente y el precipitado fue recuperado como muestras de exosomas.

### Precipitación basada en polímeros

Los Exosomas fueron colectados de 1 mL de sobrenadante de cultivo celular pretratado (10,000 x g, 30 min.) de células K562 (medio libre de suero o medio 10% FBS reducido de exosomas) de acuerdo con el manual del producto del Proveedor A (Tiempo de Precipitación: toda la noche).

## Análisis de los exosomas aislados con microscópio electrónico y análisis del seguimiento de las nanopartículas

El tamaño de las partículas de los exosomas aislados del sobrenadante de cultivo celular de células K562 (medio sin suero) usando **MagCapture™**, La ultracentrifugación y la precipitación basada en polímeros, respectivamente, se determinaron con NanoSight LM-10. Adicionalmente, los exosomas colectados ( $2-4 \times 10^{10}$  partículas) se fijaron con paraformaldehído al 2% y se analizaron por microscopía electrónica.



Las imágenes de microscopio electrónico fueron proporcionadas por el Dr. R. Hanayama de la Escuela de Graduados de Medicina, Kanazawa University y Dr. W. Nakai en iFReC, Osaka University

**MagCapture™** recolectó bastantes partículas de alrededor de 50-100 nm de tamaño. Con microscopía electrónica, numerosas vesículas extracelulares se pueden.

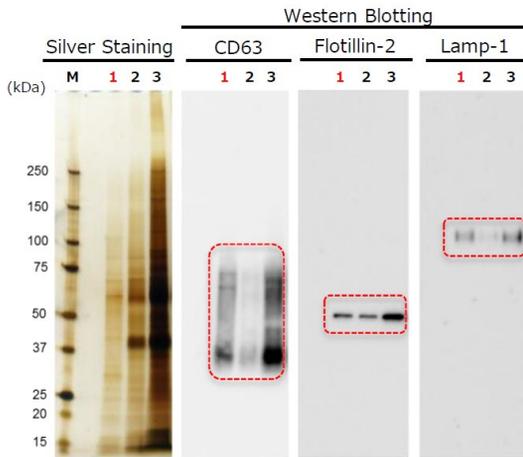


## Comparación de la cantidad de exosomas recuperados y su pureza (sin suero)

Los exosomas fueron recolectados del sobrenadante de cultivo celular de las células K562 (medio sin suero), mediante **MagCapture™** ultracentrifugación y precipitación basada en polímeros. La cantidad de recuperación y la pureza fueron analizadas por tinción de plata y Western Blot con anticuerpos anti-CD63, anti-Flotillin-2 y anti-Lamp-1.

### Comparación de la cantidad de recuperación

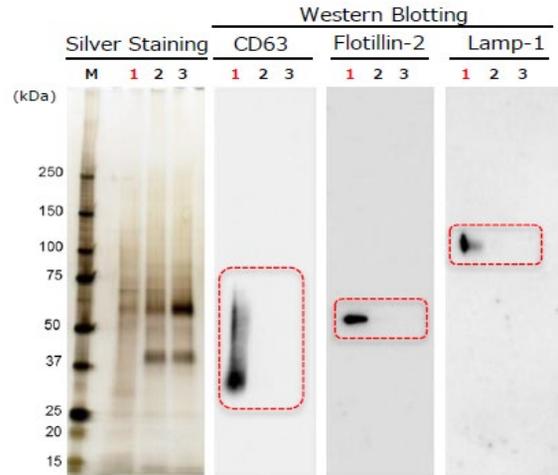
(Cantidad recuperada de 150 µL de sobrenadante de cultivo celular)



Linea 1: **MagCapture™**  
Linea 2: Ultracentrifugación  
Linea 3: Precipitación a base de polímeros

### Comparación de la pureza

(Cantidad de proteínas marcadoras por 200 ng de proteína total)



Con **MagCapture™**, el rendimiento de recuperación de los exosomas es excelente y la cantidad de proteínas contaminantes es muy baja, ¡Entonces, el equilibrio entre la pureza y la cantidad de recuperación es el mejor!

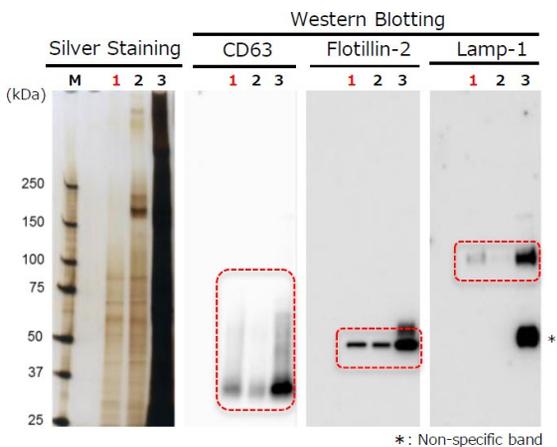


## Comparación de la cantidad de recuperación y la pureza de los exosomas (10 % FBS reducido de exosomas)

Los exosomas fueron recolectados del sobrenadante del cultivo celular de las células K562 (incluido el medio 10% FBS reducido de exosomas) mediante **MagCapture™**, ultracentrifugación y precipitación basada en polímeros. La cantidad de recuperación y la pureza fueron analizadas mediante tinción con plata y transferencia Western Blot con anticuerpos anti-CD63, anti-Lamp-1 y anti-Flotillin-2. Además, las muestras recolectadas por cada método fueron analizadas por espectrometría de masas y comparadas con el porcentaje de péptidos derivados de humano de las células K562.

### Comparación de la cantidad de recuperación

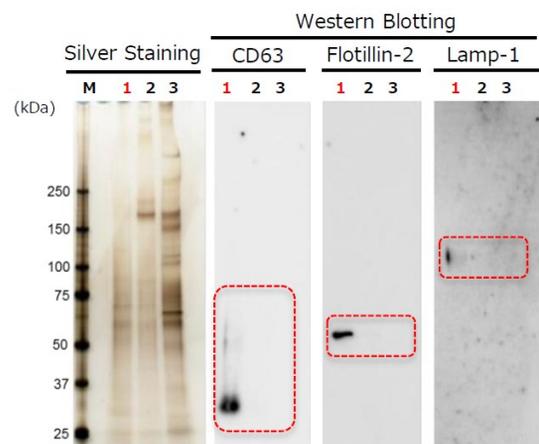
(Cantidad recuperada de 150 µL de sobrenadante de cultivo celular)



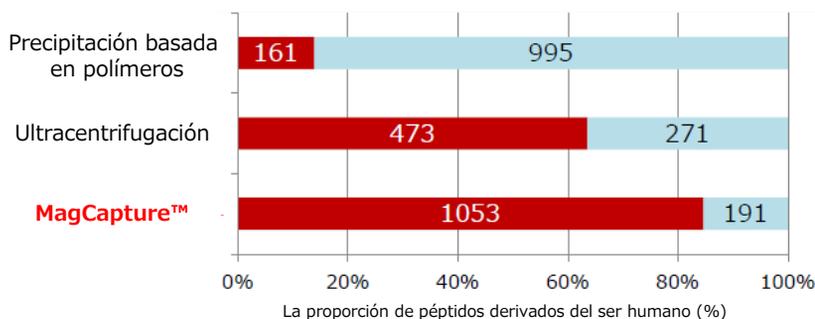
\*: Non-specific band

### Comparación

(Cantidad de proteínas marcadoras por 200 ng de proteína total)



## Comparación del porcentaje de péptidos derivados de humanos identificados por análisis MASS



Linea 1: **MagCapture™**

Linea 2: Ultracentrifugación

Linea 3: Precipitación a base de polímeros [Proveedor A]

■ Número de péptidos derivados de humanos

■ Número de péptidos derivados de FBS

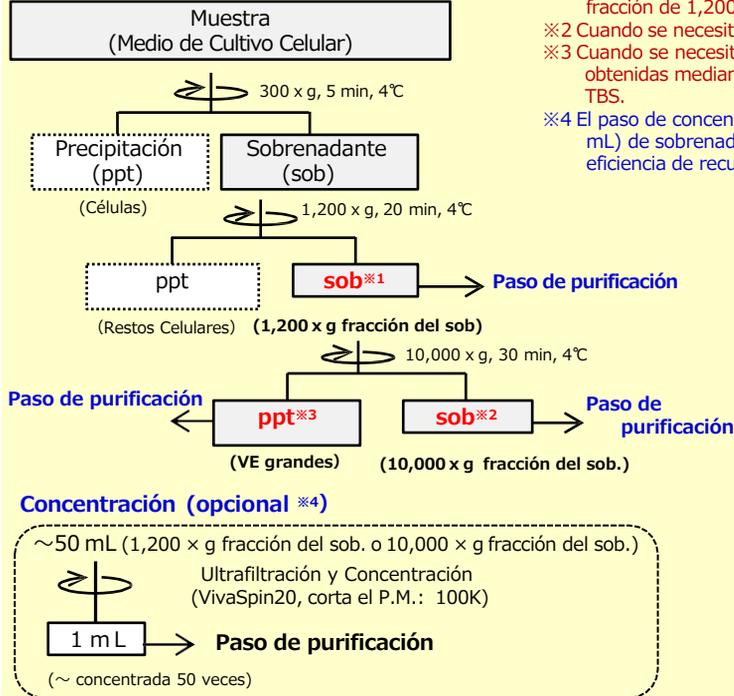


Con **MagCapture™**, los exosomas de alta pureza se recuperan incluso del medio de cultivo con FBS, por lo que el análisis MASS se puede hacer con pocas impurezas de fondo!

Los datos del análisis MASS fueron proporcionados por el Dr. R. Hanayama en la Graduate School of Medicine, Kanazawa University y el Dr. W. Nakai en iFREC Osaka University.

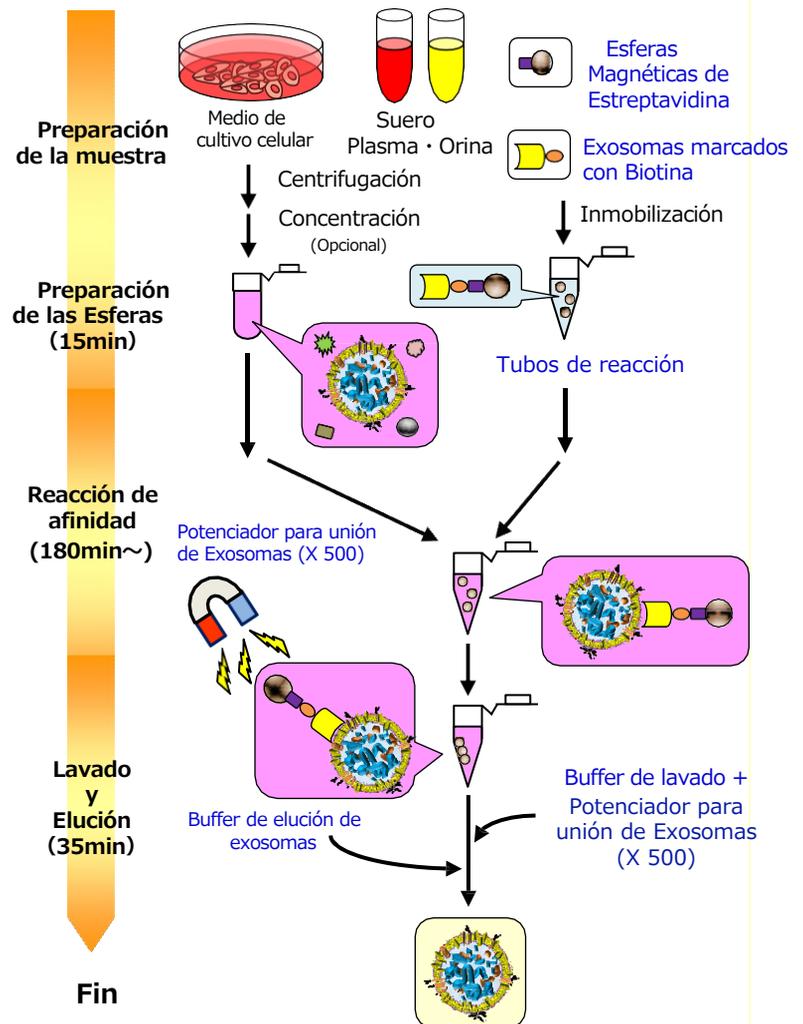
# Protocolo de pretratamiento para el sobrenadante del cultivo celular, suero y plasma

## Medio de Cultivo Celular

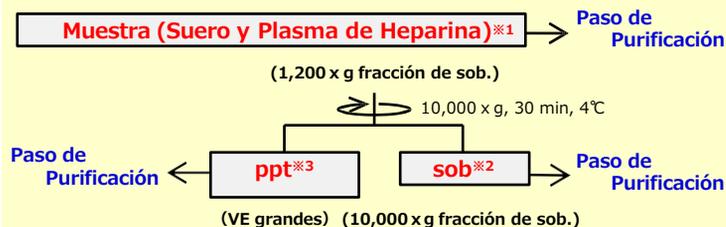


- ※1 Cuando se necesitan **exosomas y vesículas extracelulares grandes (VEG)**, utilice una fracción de 1,200 x g del sob. como muestra.
- ※2 Cuando se necesitan **exosomas**, utilice una fracción de 10,000 x g del sob. Como muestra
- ※3 Cuando se necesitan **vesículas extracelulares grandes**, utilice la ppt de las vesículas grandes obtenidas mediante centrifugación 10,000 x g como muestra después de ser suspendidas con TBS.
- ※4 El paso de concentrar la muestra es opcional solo para cuando se utilizan grandes volúmenes (~ 50 mL) de sobrenadante del cultivo celular como muestra para purificación. Sin embargo, desde que la eficiencia de recuperación es mucho mejor haciendo este paso, se recomienda hacerlo.

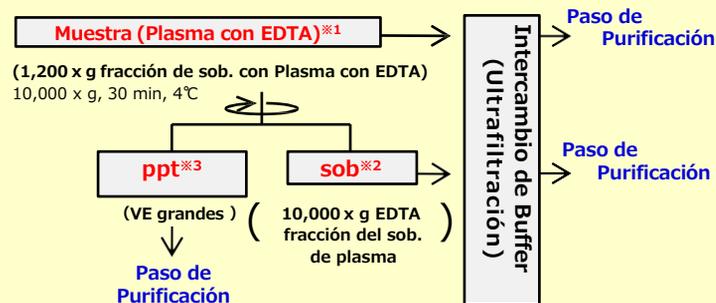
## Esquema del procedimiento



## Suero y plasma de Heparina



## Plasma con EDTA



## Referencias

"Un nuevo método basado en la afinidad para el aislamiento de vesículas extracelulares altamente purificadas", W. Nakai, T. Yoshida, D. Diez, Y. Miyatake, T. Nishibu, N. Imawaka, K. Naruse, Y. Sadamura & R. Hanayama, Sci Rep 6, 33935 (2016).

Listed products are intended for laboratory research use only, and not to be used for drug, food or human use. / Please visit FUJIFILM Wako Laboratory Chemicals site: <https://labchem-wako.fujifilm.com/> / This leaflet may contain products that cannot be exported to your country due to regulations. / Bulk quote requests for some products are welcomed. Please contact us.

**FUJIFILM Wako Laboratory Chemicals site**  
<https://labchem-wako.fujifilm.com>



FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, U.S.A  
 Toll-Free (U.S. only): +1 877 714 1920  
 Tel: +1 804 271 7677 Fax: + 804 271 7791  
[wkuslabchem@fujifilm.com](mailto:wkuslabchem@fujifilm.com)