



TIMEGATED® RAMAN AS A TOOL FOR EV CHARACTERIZATION

Seeing the unseen in
extracellular vesicles

細胞外小胞(EV)の“見えない”を“見える”へ

 **timegate**

細胞外小胞の特性評価ツールとしての Timegated®ラマン

細胞外小胞(EV)の“見えない”を“見える”へ

細胞外小胞(EV)は、細胞が放出するナノスケールの粒子であり、バイオテクノロジー分野で大きな注目を集めています。

EVには多様な分子が含まれており、診断や治療デリバリーシステムなど、さまざまな応用があります。EVは細胞間コミュニケーションにおいて重要な役割を果たし、免疫調節やがんの転移といったプロセスにも関与しています。EVの生成、品質、および診断のモニタリングは重要であり、Timegated®ラマン分光法はこれにおいて有益な手法です。

EVはリキッドバイオプシーでの診断用途にも有望です。病気に伴いEVの組成や量が変化することから、早期診断ツールや予後指標として有用です。

さらに、EVは幹細胞と同様に治療の可能性を持ち、複雑な病気の治療に活用できる可能性があります。

ラマン分光法 (RS) は、複雑なサンプルの生化学的組成を明らかにする迅速かつ非破壊的な手法です。

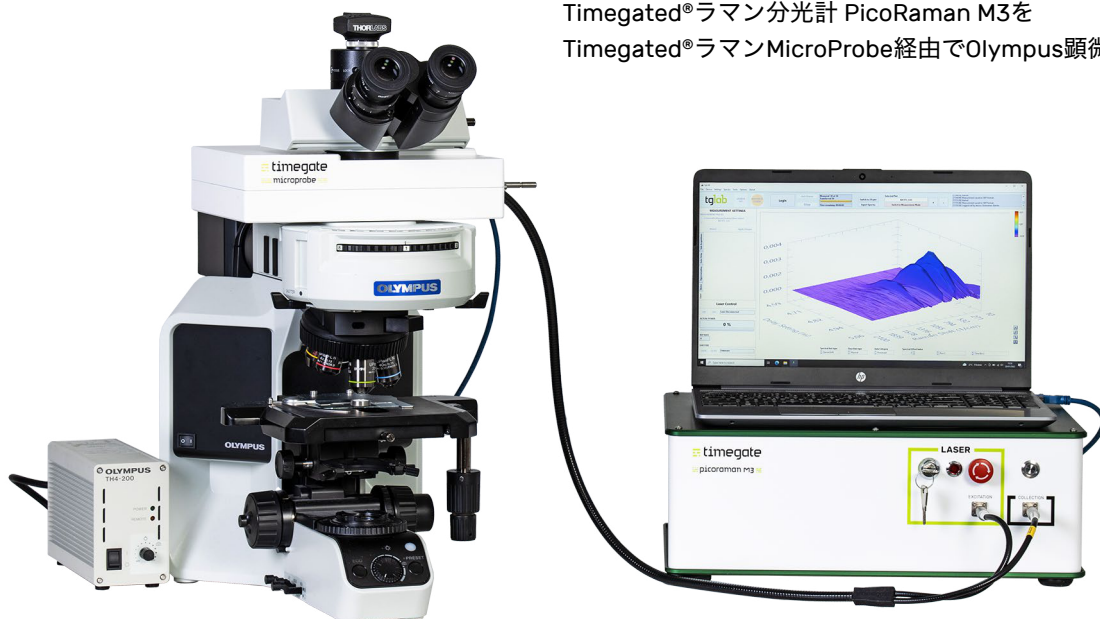
RSは細胞外小胞 (EV) 分野において品質管理ツールとして注目を集めています。ここでは、Timegated® (TG)ラマン分光計をEV特性評価に応用する可能性について述べます。

材料および方法

- Timegated®ラマン分光器 PicoRamanM3と532nm パルスレーザー
- MicroProbeをOlympus顕微鏡に接続
- EV サンプル:
 - 血小板由来EV (UCx1およびUCx2により精製)
 - HEK293細胞由来EV:
 - アデノ随伴ウイルス(AAV)2/1または2/9型に感染させたHEK293細胞
 - CD9-GFPを発現するHEK293細胞

図1 | 実験セットアップ:

Timegated®ラマン分光計 PicoRaman M3を
Timegated®ラマンMicroProbe経由でOlympus顕微鏡に接続。



結果

異なる精製プロトコルで得られた血小板由来EVのラマンスペクトルでは、明確な違いが観察されました。精製プロトコルをより徹底した準備では、タンパク質やアミノ酸に関連するピークの強度が低減していることが、図2に示されています。

EV-GFPやEVs-AAV1、EVs-AAV9に関して、主成分分析(PCA)は、主要なクラスターを示しています(図3)。これらの結果から、TGラマンはEVの純度の度合いに基づいてEV調製を識別できる適切なツールであり、

健康なEV調製物とAAVで汚染された調製物を区別することができます。TGラマンはEV調整物内に含まれる多様なAAVの違いも明らかにします。

結論：

TGラマンは、GFPによる蛍光干渉を克服することが可能です。これにより、GFP標識EVのラマンスペクトルを取得できます。これらのスペクトルは、非標識EVと比較して顕著な違いを示しませんでした。

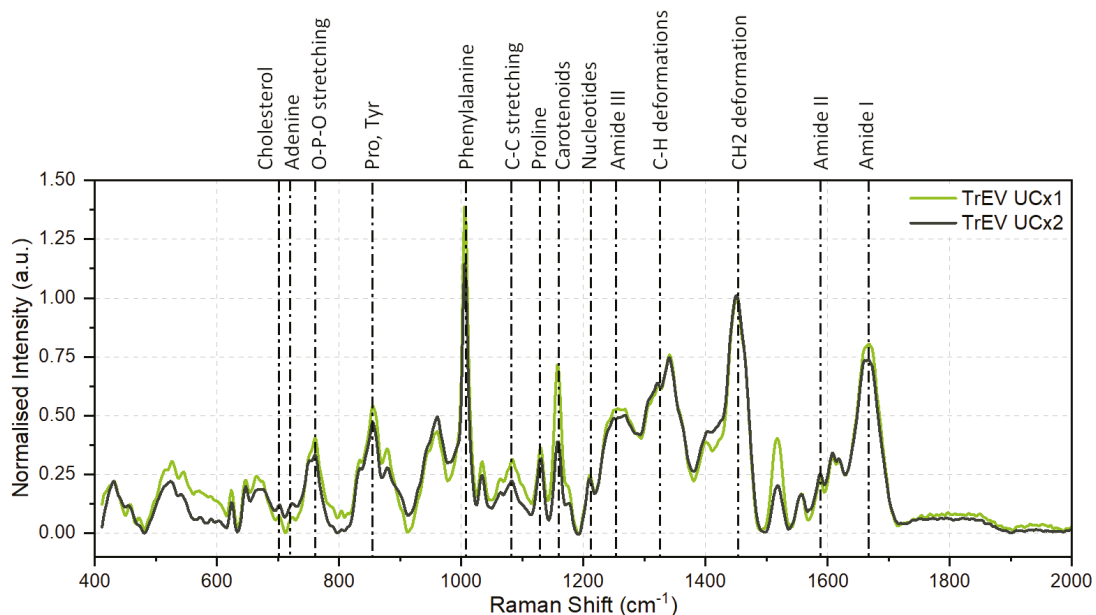


図2 | 血小板(TrEV)由来のEV(細胞外小胞)のラマンスペクトル。UCx1(薄緑)およびUCx2(濃緑)による精製。グラフ上部にピークの推定割り当てが示されています。

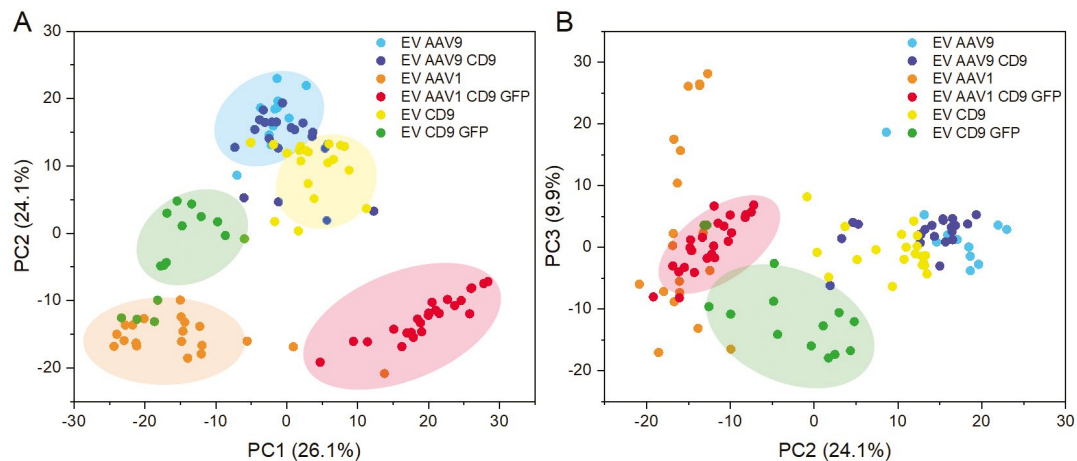


図3 | ラマンスペクトルの多変量統計解析。PCA(主成分分析)は、EVおよびEV-AAVから得られたスペクトルに対し実施。CD9および/またはGFPとマークされたサンプルは、CD9を過剰発現、またはGFPを発現しています。

Real-time process monitoring,
improved product quality,
and faster time to market
for biopharmaceuticals



Find us on:



@TgiRaman



Timegate Instruments Ltd

Visiting address:

Timegate Instruments Ltd

Tutkijantie 7

FI-90590 OULU, FINLAND

info@timegate.com

www.timegate.com

日本販売店



HORIZO Inc.

ホライゾ株式会社

<https://www.horizo.co.jp>
contact@sub.horizo.co.jp
お気軽にお問い合わせください