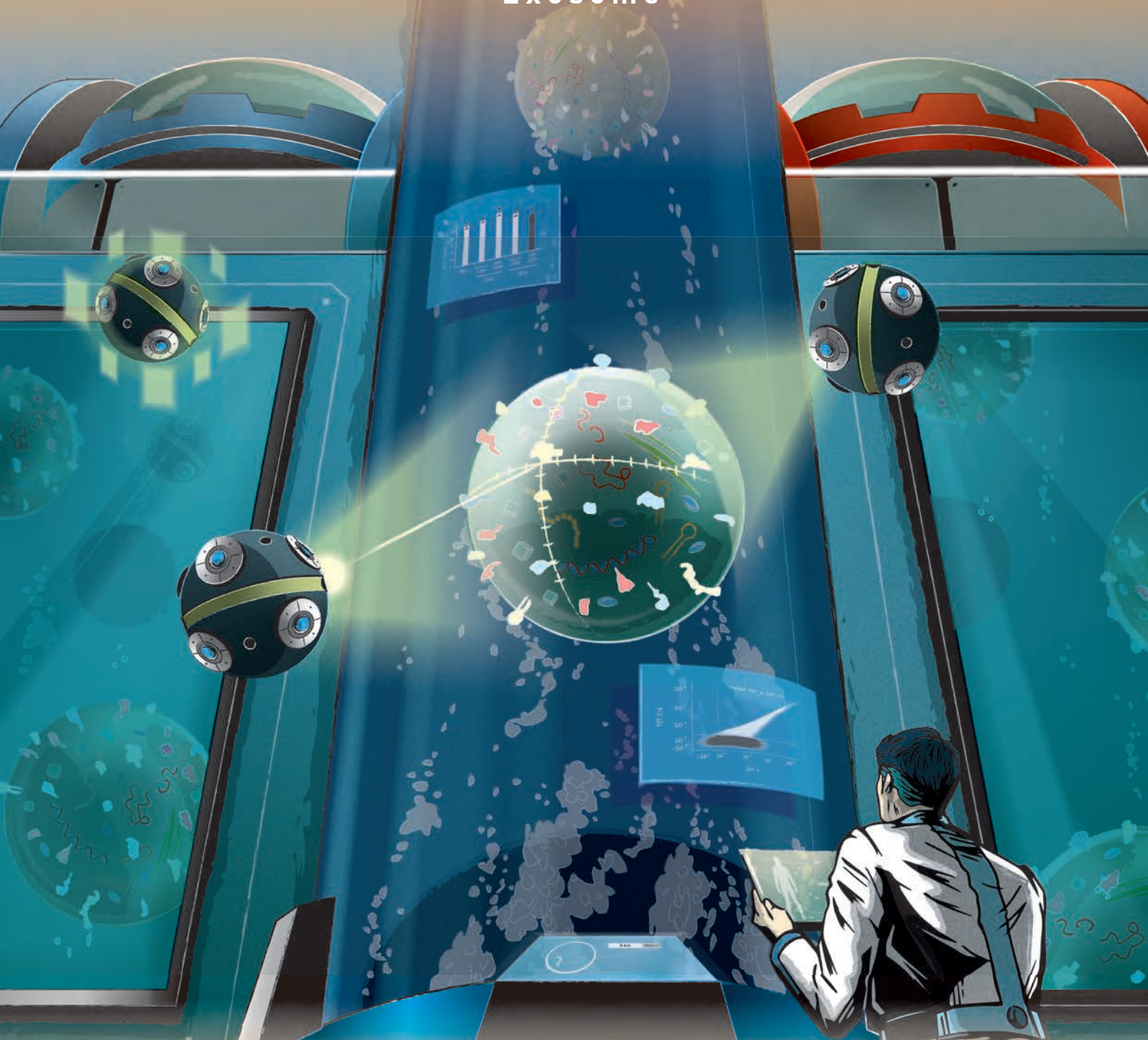


エクソソーム

2021

Exosome



index

funakoshi News
フナコシニュース

2021 No.731 **8** / 1

ポリマーフリーでエクソソームを効率よく回収できるキット p.7~8
SmartSEC シリーズ

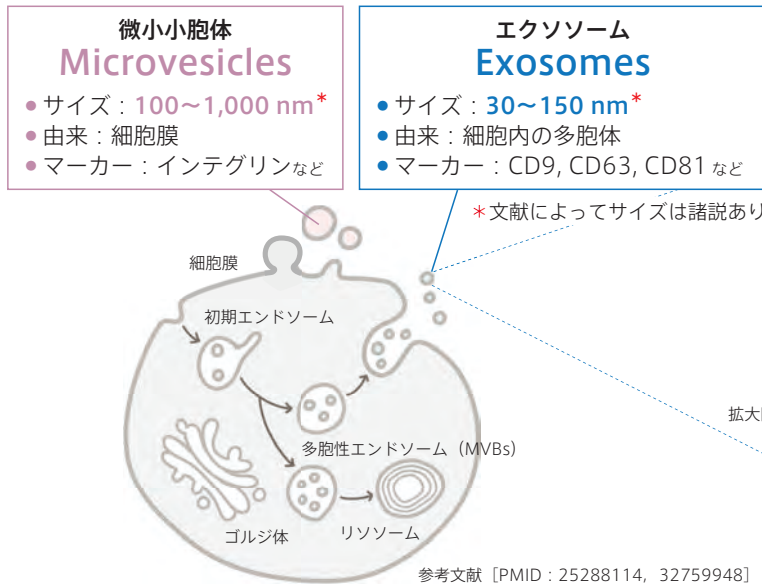
密度勾配遠心法によるエクソソーム単離を効率化する試薬 p.13

細胞内/外のエクソソームを蛍光によりモニタリングできる試薬 p.25

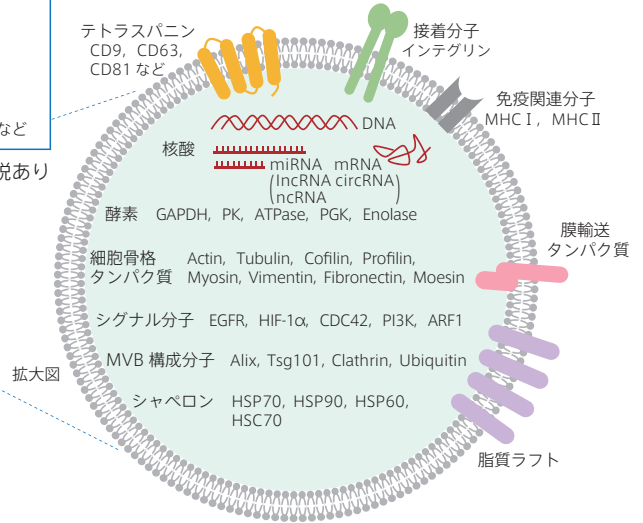
Exosome (エクソソーム, エキソソーム) とは

EXOSOME

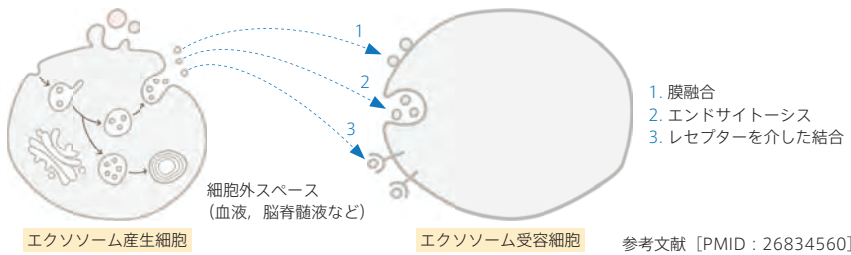
エクソソームはエンドソーム由来の細胞外小胞(EV)の一種



エクソソームには様々な分子が含まれている



エクソソームは細胞間の情報伝達を行っている



エクソソームが関わる生理機能・イベント

- 細胞の代謝・シグナル伝達
 - 細胞の発生・再生
 - 細胞接着
 - がん進行・がん転移
- など

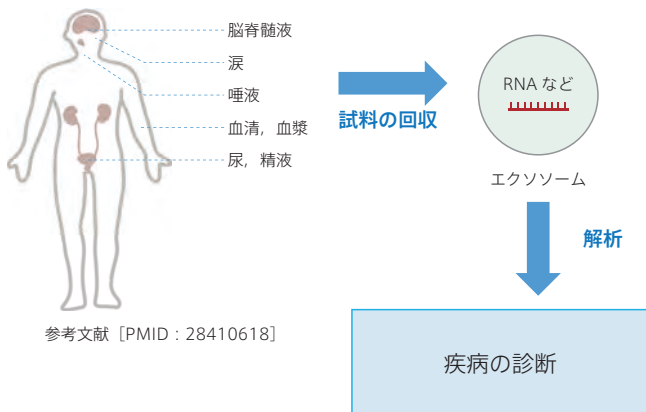
エクソソームは疾患と関連する



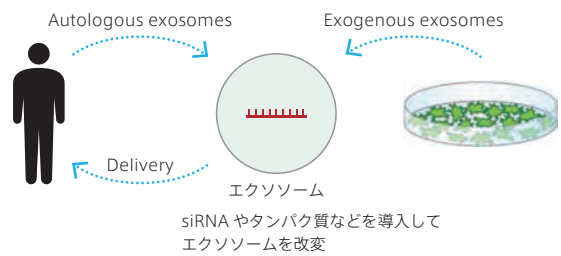
例 1 あらかじめインターフェロン γ で刺激された間葉系幹細胞から産生されたエクソソームは、内容物の有効成分が濃縮されていた。これを取り込んだマクロファージはより効率的に肝臓の障害部分に移動し、肝硬変の組織修復に働くようになった。
参考文献 [PMID : 33785758]

例 2 間葉系幹細胞由来のエクソソーム (MSC-exos) は、以下の点からアルツハイマー病の治療薬として期待されている。
・アミロイド β を分解する酵素 NEP (ネプリライシン) を持つ。
・アミロイド β オリゴマーによる酸化ストレスやシナプスの損傷から海馬神経細胞を保護。
・活性化ミクログリア, 反応性アストロサイトおよび炎症性サイトカインの放出を抑制し, 神経炎症を抑える。
参考文献 [PMID : 32928293]

エクソソームはリキッドバイオプシーのマーカールとして期待されている



エクソソームは治療薬としても期待されている



エクソソームには所定の臓器や組織の細胞に分子を送達する機能があり、天然のドラッグデリバリーシステムとしての応用が研究されている。

エクソソーム回収方法について

現在では、市場に様々なエクソソーム回収法・精製法が溢れており、選択肢が豊富にあります。エクソソームの回収には、主に超遠心法が用いられ、次いでサイズ排除クロマトグラフィー、ポリマー沈殿法などが下流のアプリケーションに応じていくつかの方法を組み合わせられて用いられています。それぞれの方法には長所と短所（時間・操作性・精製度）があるため、貴重な試料を処理する前に、実験の目的には何が最適な回収方法なのかを慎重に検討しなければなりません。

	超遠心法		ポリマー沈殿法	サイズ排除 クロマトグラフィー法 (ゲルろ過)	免疫沈降法
	ベレットダウン法	密度勾配遠心法			
概要	遠心速度と遠心時間を変えながら複数回遠心を行い、試料から細胞や死細胞、タンパク質凝集物などを取り除いていき、エクソソームを回収する。超遠心法の中でも最もスタンダードな方法。	密度勾配溶質と溶媒の密度差を利用した分離方法。密度が異なる成分を分離することができる。	ポリマーを用いて、該当のサイズのエクソソームや生体高分子を沈殿し、回収する。	ゲルろ過カラムで、エクソソームを回収する。	エクソソームの表面抗原に対する抗体を結合させた磁気ビーズを使用し、抗原抗体反応により回収する。
精製度合い	○	◎	△	◎	○
処理時間	△	△	◎	○	◎
メリット	<ul style="list-style-type: none"> 超遠心法の中では操作手順が最もシンプル。 ランニングコストが低い。 多量の試料にも対応できる。 	<ul style="list-style-type: none"> 高純度なエクソソームの回収が可能。 	<ul style="list-style-type: none"> 操作が簡単。 特別な装置が不要。 短時間でエクソソームを回収できる。 	<ul style="list-style-type: none"> 高純度なエクソソームの回収が可能。 操作が簡単。 再現性が高い。 あらゆる種類の試料に対応できる。 	<ul style="list-style-type: none"> 特定の由来のエクソソームを回収できる。 高純度なエクソソームの回収が可能。 操作が簡単。
デメリット	<ul style="list-style-type: none"> 超遠心分離機を必要とする。 夾雑物が多く、精製純度はそれほど高くない。 作業時間が長い。 	<ul style="list-style-type: none"> 超遠心分離機を必要とする。 エクソソーム回収量はベレットダウン法より少ない。 作業時間が長い。 	<ul style="list-style-type: none"> タンパク質や沈殿に用いたポリマーそのものなどの夾雑物が含まれる。 クリーンアップの工程が必要。 	<ul style="list-style-type: none"> 多検体処理には向いていない。 回収したエクソソームは希釈された状態であるため、必要に応じて濃縮が必要。 	<ul style="list-style-type: none"> エクソソームマーカの最適化が必要。 処理量と収率が低い。 エクソソーム溶出の際、エクソソームがダメージをうける場合がある。

※使用するキットによって、処理時間や精製度は異なります。

参考文献：Yang, D., et al., *Theranostics*, **10** (8), 3684~3707 (2020).
Ayala-Mar, S., et al., *Electrophoresis*, **40**, 3036~3049 (2019).
吉岡祐亮, 落谷孝広／編 (2020)『決定版エクソソーム実験ガイド』羊土社



「エクソソーム 2021 特別号」表紙ストーリー

探索に出掛けた研究員たちが回収してきたエクソソーム。この構造物には、一体どのような可能性が秘められているのでしょうか。
今、エクソソームの謎を解き明かす実験が始まります！

NOTE

※本紙に記載されている価格は、2021年8月1日現在です。表示価格に、消費税等は含まれていません。一部価格が予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。
※本紙に掲載されている製品は研究用です。医薬品、診断用医薬品、食品、食品検査等の用途には使用できません。
※**カルタヘナ**印の製品は、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（通称：カルタヘナ法）」使用規制対象となりますので、ご使用に際しては規制に則し、適切にお取り扱い下さい。
※**薬種**印の製品は、取り扱いに厳重な注意を要する製品であり、ご購入時に「使用目的確約書」が必要になります。ご注文の際は、「使用目的確約書」に直筆でご記入の上、販売店経由で当社までお送り下さい。確約書受領後に製品を発送させていただきます。また、これらの製品をご購入後は、鍵の掛かる場所での保管をお願いいたします。
※**毒劇**印の製品は、「毒物及び劇物取締法」に基づく医薬用外毒劇物です。法規制に従って、保管、廃棄等して下さい。
※**X**印の製品は、毒性があるため、取り扱いに注意または厳重な注意が必要です。製品は、鍵の掛かる場所に保管して下さい。添付されているデータシートや商品ラベルをよくお読み下さい。
※**△**印の製品には安全にご利用いただくための警告ラベルが貼られています。表示に従って安全対策を実施して下さい。

※**液室**印は、液体窒素中での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが、製品到着後、直ちに液体窒素中で保存して下さい。
※**-80℃**印は、-80℃での保存を要する製品です。ドライアイス包装で配送していますが、製品到着後、直ちに-80℃のフリーザー等に保存して下さい。
※以下の英数字は、商品コードを示します。
※外観・仕様は改善のため、予告なく変更することがあります。
※R&D Systemsはテクネ コーポレイションの登録商標です。
※© 2021 American Type Culture Collection. The ATCC trademark and trade name, and any other trademarks listed in this publication are trademarks owned by the American Type Culture Collection unless indicated otherwise.
※記載されている会社および商品名は、各社の商標または登録商標です。
※本紙には各メーカーから提供された画像・図表が掲載されています。なお、画像・図表の著作権は各メーカーが保有しています。
※ご注文の際は、【品名、メーカー、商品コード、包装、数量】をお知らせ下さい。

エクソソーム 2021 目次

コラム

エクソソームとがん	5
エクソソームと再生医療	6

エクソソームの回収・精製

ポリマーフリーでエクソソームを効率よく回収できるキット SmartSEC シリーズ	サイズ排除クロマトグラフィー法	7~8
エクソソーム回収試薬 ExoQuick シリーズ	ポリマー沈殿法	9~12
血清・血漿用 ExoQuick ULTRA		9
血清・腹水用 ExoQuick		10
組織・細胞培養液/尿/髄液用 ExoQuick-TC		11
組織・細胞培養液用 ExoQuick-TC ULTRA		11
血漿用 ExoQuick Plasma Prep		12
血清・血漿用 ExoQuick-LP		12
組織・細胞培養液/尿/髄液用 ExoQuick-CG		12
グラム陽性菌の外膜小胞を単離するキット	イオン交換クロマトグラフィー法	13
密度勾配遠心法によるエクソソーム単離を効率化する試薬	密度勾配遠心法	13
細胞培養液からエクソソームを回収する際に最適な FBS		14
ほとんどの試料に対応したエクソソーム分離試薬	ポリマー沈殿法	14
免疫沈降によるエクソソーム精製キット	免疫法降法	15
フローサイトメトリーによるエクソソーム精製キット	免疫法降法	15
フローサイトメトリーにより特定の EV 集団を捕捉するキット	フローサイトメトリー	16
細胞外小胞の単離に使用できる Tim-4 組換え体タンパク質		17

エクソソームの検出・確認

エクソソーム量を推定するキット	17
エクソソームを検出する抗体アレイ	18
ニューロン由来のエクソソームを検出する抗体アレイ	18
エクソソームマーカー抗体	19

エクソソームを用いた実験（解析）

エクソソーム DNA を精製するキット	19
エクソソーム由来 RNA の精製から cDNA の合成まで行えるキット	20
エクソソームから total RNA を精製するキット	21
エクソソーム由来 RNA の次世代シーケンシング解析受託サービス	21
NGS 用 RNA ライブラリーをバイアスなしで構築できる逆転写酵素	22
エクソソームの膜タンパク質・総タンパク質の質量分析サービス	22
LS-MS を用いたプロテオーム受託解析サービス	23
miRNA-Seq 解析受託サービス	23
miRNA 発現解析受託サービス	24
エクソソーム糖鎖解析受託サービス	24
細胞内・外のエクソソームを蛍光によってモニタリングできる試薬	25
エクソソーム内の mRNA/タンパク質/エクソソーム膜を蛍光標識するキット	26
エクソソームなどの細胞外小胞を蛍光標識するキット（蛍光 NTA 測定用）	27
エクソソームにも使用可能な無毒性の蛍光細胞膜プローブ	27
エクソソームに siRNA / miRNA を導入する試薬	28
目的タンパク質を内包したエクソソームを産生するシステム	29
エクソソームに miRNA を導入するシステム	30~31
目的タンパク質をエクソソーム表面に提示させるシステム	32
標的細胞への特異性を上げたエクソソームを作製するキット	33
ATCC® の精製エクソソーム	34
System Biosciences 社の精製エクソソーム	35

その他

低分子量 G タンパク質研究ツール	36
miRNA 検出・定量試薬 ID3EAL シリーズ	40

コラム

エクソソームとリキッドバイオプシー	37
-------------------	----

リキッドバイオプシー

生体液からの cfRNA 精製キット	38
血清・血漿からの cfDNA 精製キット	38
cfDNA 増幅キット	39
cfDNA 研究のコントロールに使用できる cfDNA を除去したヒト血漿	39

エクソソームとがん

エクソソームは様々な物質から構成されており、exosome database (<http://www.exocarta.org/>) のリストによると、9,769種のタンパク質、3,408種のmRNA、2,838種のmiRNA、1,116種の脂質の存在が確認されています。特定のタンパク質や核酸などを含むエクソソームはオートクリン因子およびパラクリン因子*として作用します。このようなエクソソームの内容物は、がんの予後、あるいはがんの進行度合いを評価するマーカーとして用いることができると考えられています。

*細胞からの分泌物が細胞の機能を制御する時、比較的近い細胞に作用する分泌物をパラクリン因子、分泌物が分泌した細胞自身にも作用する分泌物をオートクリン因子と呼びます。

がんのバイオマーカーとして期待されるエクソソーム内容物

Exosomal HSP

熱ショックタンパク質 (HSP) は、細胞内でタンパク質のフォールディングを制御する分子シャペロンとして知られていますが、エクソソームを介して細胞間を移動し細胞非自律的なタンパク質の恒常性維持にも寄与すると考えられています。

- ・がん細胞は常にストレス環境 (低酸素、アシドーシス、代謝欠損、栄養素の欠乏など) にさらされていることから Hsp90 の発現量が高い。また、Hsp90 はエクソソームを介した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ている。
- ・Hsp90 の膜変形能は MVBs (多小胞体) と細胞膜の融合を仲介していることが明らかになっている。
- ・がん細胞から分泌される Hsp90α を表面に有するエクソソームは、オートクリンまたはパラクリン因子としてがん細胞および間質細胞の遊走を誘導する。

Exosomal miRNAs

体液 (唾液、血液、血清など) から分離したエクソソームに含まれる miRNA は、がんの予後や悪性度を判定するための非侵襲的なバイオマーカーとして期待されています。

- ・非小細胞肺癌患者と健常者の血漿から採取したエクソソームを分析したところ、miR-126 の発現が非小細胞肺癌患者において増加していた。
- ・肺癌患者の血清から採取した循環エクソソーム中の miR-23a が増加していた。miR-23a の発現レベルは血管新生作用と正の相関がある。
- ・がん幹細胞 (CSC) と対応する親細胞が分泌するエクソソームを調査したところ、6種類の miRNA (miR-1246, miR-424-5p, miR-628-5p, miR-1290, miR-675-3p, miR-590-3p) の発現が上昇し、5種類の miRNA (miR-224-5p, let-7b-5p, miR-615-3p, miR-122-5p, miR-5787) の発現が低下していた。

lncRNA (Long noncoding RNA)

腫瘍の成長、転移、血管新生を制御し、TME (腫瘍微小環境) を再構築する制御 RNA です。

lncRNAs-ATB は肝細胞がん (HCC)、大腸がん (CRC)、胃がん、肺がんなどで発現量が増加するがん関連 lncRNA である。miRNA (miR-200 ファミリー) と競合的に結合することによって上皮間葉転換 (EMT) を誘導し、腫瘍形成・成長を促進する。

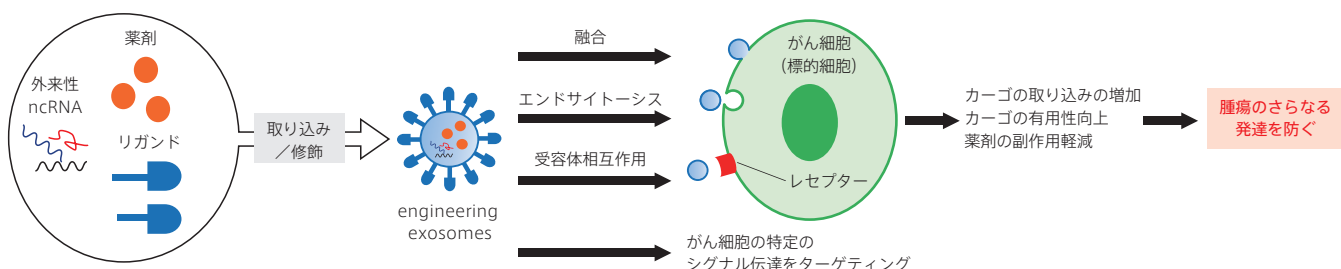
circRNA (circular RNA)

circRNA は、遺伝子や miRNA の発現調節因子として機能し、腫瘍細胞の増殖、浸潤、転移、進行など、さまざまながんの生物学的プロセスに関与していると考えられています。

膀胱上皮がん患者や転移性膀胱がん患者の血漿エクソソームでは circ-IARS の発現量が増加していた。このエクソソームを HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) に作用させると、miR-122 や ZO-1 の発現量が低下し、腫瘍浸潤や転移が誘導された。

がん治療薬としてのエクソソーム

エクソソームを使うことで、標的細胞に治療用の miRNA やタンパク質などの薬物を安定的に運ぶことができると考えられています。リポソーム/金属ナノ粒子/ポリマーなど他の素材と比較して、エクソソームはバイオアベイラビリティ (生物学的利用能) が高く、非標的細胞に対する毒性や免疫原性を低減することができます。エクソソームに取り込ませた抗がん剤や外来性の noncoding RNA は、がん細胞やがん幹細胞の特定のシグナル伝達を直接標的とし、腫瘍の発達を防ぐと考えられています。さらにエクソソームの表面を、がん細胞の表面に発現しているレセプターに対応するリガンドで修飾することで、細胞へのエクソソームの取り込み効率を向上させることができます。

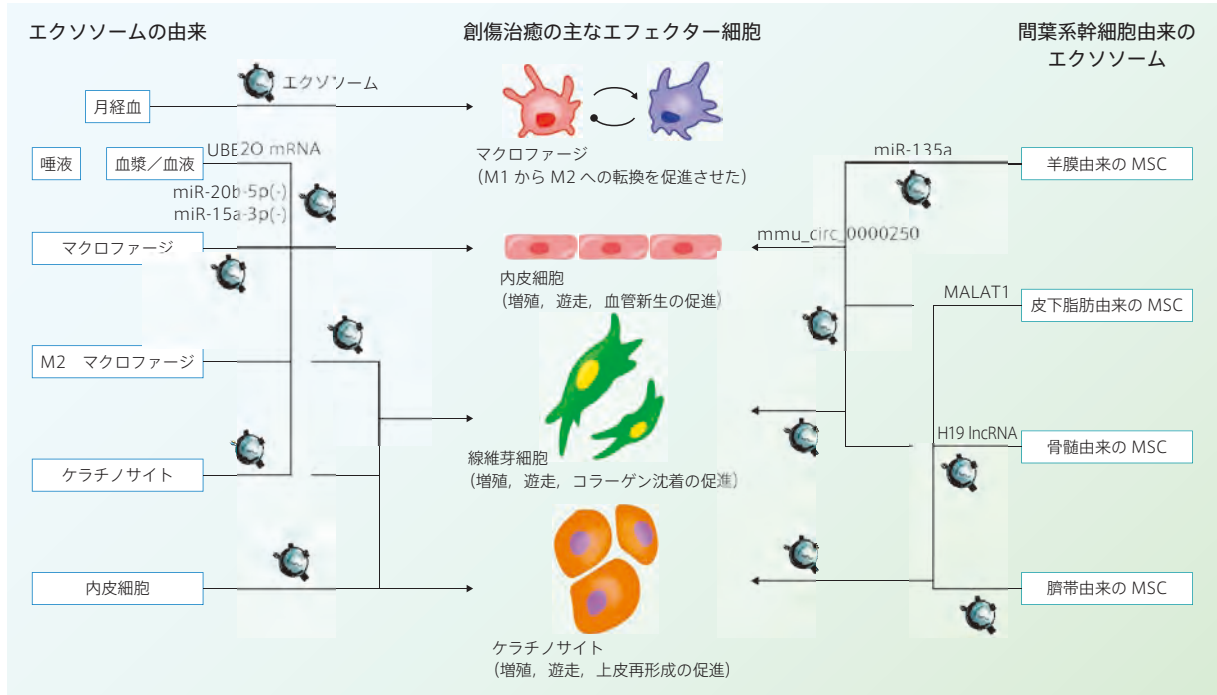


参考文献: Dai, J., et al., *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5:145 (2020). [PMID:32759948]

エクソソームと再生医療

最近の研究では、内因性の複数のエクソソームが、皮膚細胞内を移動し、慢性炎症性皮膚疾患の複雑な分子メカニズムに関与していることが明らかになっています。さらに、幹細胞由来のエクソソームのような外因性のエクソソームは、皮膚組織を修復、再生および若返らせるための新たな治療法となりうるということが示されています。

例えば、メラノサイト由来のエクソソームは、皮膚の色素沈着を調節する働きを持つと考えられ、間葉系幹細胞 (MSC: Mesenchymal Stem Cell) 由来のエクソソームは、皮膚感受性試験において非感受性であることが示唆され、副作用のない外用剤として使用できると考えられています。



さまざまな由来のエクソソームは創傷治癒のエフェクター細胞に影響を及ぼす

傷跡の改善

ADSC (脂肪由来幹細胞) 由来のエクソソームは創傷後の傷跡の修復プロセスを促進することができます。

- マウスの ADSC 由来のエクソソームの全身投与により、初期段階ではコラーゲン I ~ III の産生が増加、後期段階ではコラーゲンの発現が抑制された。¹
- マウスの全層皮膚創傷モデルにおいて、ADSC 由来のエクソソームが PI3 Kinase Akt (PI3K/Akt) シグナル経路を活性化することで、コラーゲン合成が促進され、コラーゲンの沈着を最適化した。結果、治癒時間が短縮、瘢痕形成が減少した。²

アンチエイジング

エクソソームは、細胞間コミュニケーションを媒介し、HDF (ヒト皮膚線維芽細胞) の特性を調節できるため、近年、アンチエイジングによる肌の若返りに関して非常に注目されています。

- HDF スフェロイドの三次元培養から得られたエクソソーム (3D-HDF-exos) は真皮線維芽細胞を制御して、効率的なコラーゲン合成を誘導し、皮膚の炎症改善、老化防止効果を保有する可能性がある。³
- UVB (紫外線 B 波) による光老化と自然老化モデルにおいて、iPS 細胞由来のエクソソームが光老化した HDF の遺伝子型および表現型の変化を改善することを示した。⁴

毛髪の再生

毛包幹細胞 (HFSC) と毛乳頭細胞 (DPC) は毛髪の成長と再生、特に成長期の毛包 (HF) の維持に重要な役割を果たしています。

- 三次元培養した DPC 由来のエクソソームは、DPC および外毛根鞘細胞 (ORSC) の生存率を向上、また DPC におけるインスリン様成長因子 1 (IGF-1)、ケラチノサイト増殖因子 (KGF)、肝細胞増殖因子 (HGF) の発現を増加させた。さらにヒト培養毛包における毛幹の伸長を促進することが発見された。⁵
- 三次元培養した DPC 由来のエクソソームをマウスに注入したところ、毛包の活動期 (anagen) の開始が早まり、退行期 (catagen) が延期された。⁵

参考文献: Xiong M., et al., *Pharmacological Research*, **166**, 105490 (2021). [PMID:33582246]

- Hu L., et al., *Sci. Rep.*, **6**, 32993 (2016).
- Zhang W., et al., *Exp. Cell Res.*, **370**, 333~342 (2018).
- Hu S., et al., *ACS Nano*, **13**, 11273~11282 (2019).
- Oh M., et al., *IJMS*, **19**, 1715 (2018).
- Kwack M.H., et al., *Exp. Dermatol.*, **28**, 854~857 (2019).

オススメ製品
抗ケラチン抗体 p.35

ポリマーフリーでエクソソームを効率よく回収できるキット SmartSEC EV Isolation System



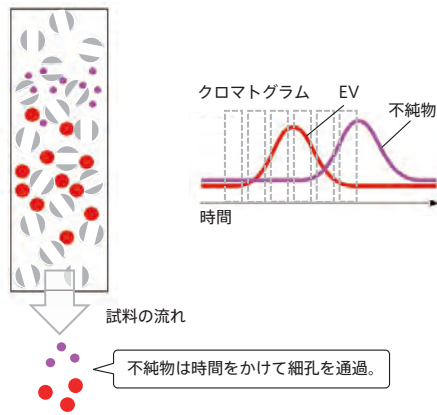
生体試料からエクソソームなどの細胞外小胞 (EV) をサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) により回収するキットです。試料を添加してインキュベートし、遠心後に溶出するだけの簡便な操作で、ポリマーフリーで EV を回収できます。

ここがすごい

従来の SEC (サイズ排除クロマトグラフィー法)

- 高純度のエクソソームが得られる
- 超遠心を行わないので短時間の操作で回収が可能
- × 回収したエクソソームの濃度が低い
- × 大量のフラクションの回収が必要なうえ、回収したフラクションの多くにはエクソソームが含まれない

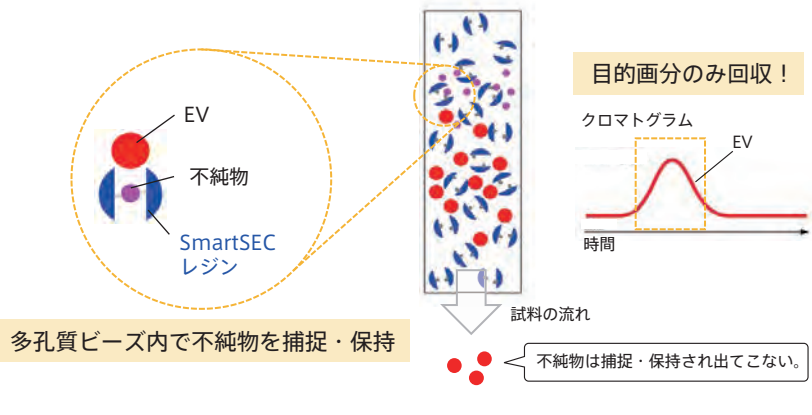
従来 SEC カラム



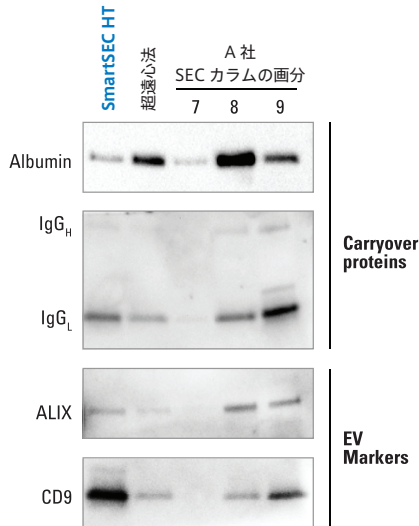
SEC の利点そのままに欠点の改善!! SmartSEC

- ✓ 超遠心を行わないため短時間の操作で回収が可能
- ✓ 多孔性の SmartSEC ビーズが、IgG やアルブミンなどの 400 kDa (15~20 nm) までのタンパク質不純物を捕捉・保持
- ✓ 1つのフラクションに高濃度な EV が溶出されるように最適化

SmartSEC カラム

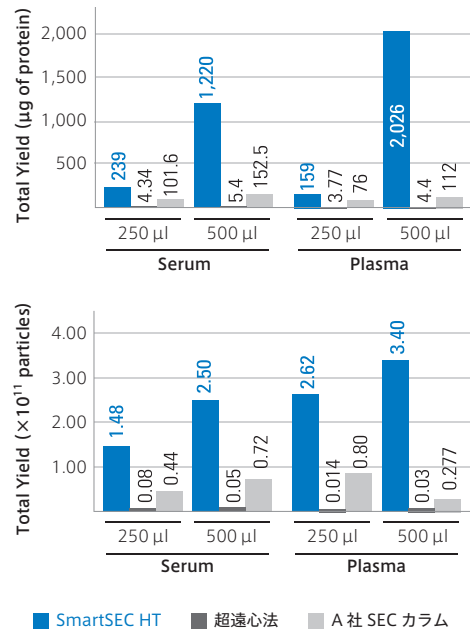


使用例



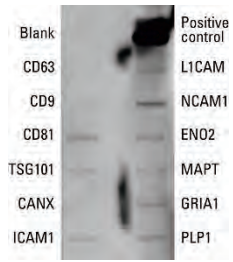
SmartSEC HT EV Isolation System (#SSEC096A-1), 超遠心法およびA社 SEC カラムを用いて、500 μl の血清から EV を回収した。

EV 収量の比較

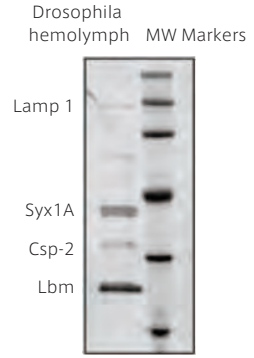
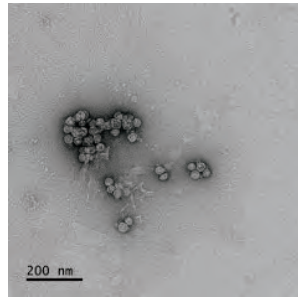


SmartSEC HT EV Isolation System (#SSEC096A-1), 超遠心法およびA社 SEC カラムを用いて、血清および血漿 (250 μl または 500 μl) から EV を回収した。

使用例



試料	脳脊髄液 (CSF)
EV 単離法	SmartSEC Single
濃度	0.08 µg/µl
容量	750 µl
総収量	60 µg



脳脊髄液 (CSF) から単離した EV

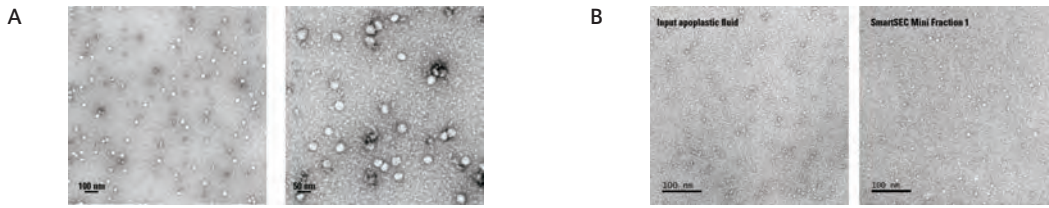
SmartSEC Single (#SSEC200A-1) を使用して脳脊髄液 (CSF) からエクソソームを単離した。

EV の透過型顕微鏡 (TEM) 解析

SmartSEC Single (#SSEC200A-1) を使用して血清から単離した EV。透過型電子顕微鏡 (TEM) 像では、視認できるバックグラウンドの破片がほとんどなかった。

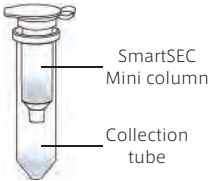



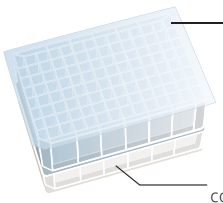

キイロショウジョウバエの血リンパから精製した EV のウェスタンブロット分析例

SmartSEC Mini (#SSEC100A-1) を用いてキイロショウジョウバエの血リンパ 10 µl から EV を精製し、その 1 µg タンパク質相当量をショウジョウバエの一般的なエクソソームマーカーを用いてウェスタンブロットングで分析した。



A : SmartSEC Mini (#SSEC100A-1) を用いてプラナリア新生芽細胞の培養液 100 µl から単離した EV の TEM (透過型電子顕微鏡) 像
B : SmartSEC Mini (#SSEC100A-1) を用いてシロイヌナズナのアポプラスト液 50 µl から単離した EV の TEM (透過型電子顕微鏡) 像

[メーカー : SBI]

品名	SmartSEC Mini EV Isolation System ミニカラムタイプ	SmartSEC Single EV Isolation System シングルカラムタイプ	SmartSEC HT EV Isolation System ハイスループットタイプ	
特長	・最少 10 µl の試料から EV を回収できます。 ・幅広い試料に対応しています。	・シングルカラムタイプのキットです。	・最大 96 試料から EV を回収できます。 ・プレートの各ウェルは数回に分けて使用することも可能です。	
キット内容	 SmartSEC Mini column Collection tube  SmartSEC Mini isolation buffer	 SmartSEC Single column ※回収用チューブは別途ご用意下さい。  Column buffer	 SmartSEC HT isolation plate*2 SmartSEC HT collection plate*2×2  SmartSEC isolation buffer	
測定試料 (動物種)	・血清, 血漿 (ヒト, マウス, ラット) ・細胞培養上清 (プラナリア) ・アポプラスト液 (シロイヌナズナ) ・血リンパ (ショウジョウバエ)	・血清, 血漿, 脳脊髄液 (ヒト) ・血リンパ (ジャンボアメフラシ)	・血清, 血漿 → 前処理不要!	
試料量	10~100 µl*1	血清, 血漿 : 100~250 µl その他 : ~4 ml	250~500 µl	
操作時間	< 30 分	< 30 分	< 1 時間	
商品コード	SSEC100A-1	SSEC200A-1	SSEC096A-1	SSEC008A-SAM
包装	1 kit (10 reactions)	1 kit (10 reactions)	1 kit (96 reactions)	1 kit (8 reactions)
価格 (¥)	71,000	71,000	375,000	37,000

*1 試料により異なります。詳細はデータシートをご覧ください。

*2 フィルターおよびプレートは、手動操作および ANSI/SBS 規格の自動分注システムに適合しています。

トライアルサイズの製品です。
1 研究室 1 回限りでご購入いただけます。



Web ページ番号

ポリマー法

4337



アルブミン, Ig 低減可能

Web ページ番号

67903



使用文献多数！ エクソソームを簡単に回収できるポリマー試薬 ExoQuick シリーズ

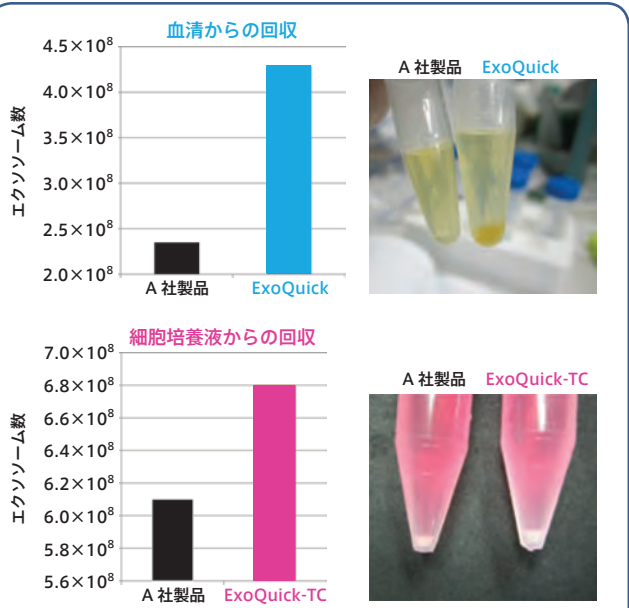
米国特許取得：US9,005,888 B2

エクソソームを沈殿させる試薬 ExoQuick には、**血清や血漿、腹水用の ExoQuick** と、**それ以外の生体液用の ExoQuick-TC** があります。
この2つの試薬を基本とし、「夾雑物を低減させるための試薬・カラム」も含んだ様々なキットを取りそろえています。



製品ラインナップ (各製品の詳細は p.9~p.12 をご覧ください)

- 1 血清・血漿用 **アルブミン, Ig 低減可能** ExoQuick ULTRA p.9
- 2 血清・腹水用 ExoQuick p.10
- 3 組織・細胞培養液/尿/髄液用 ExoQuick-TC p.11
- 4 組織・細胞培養液用 **アルブミン, Ig 低減可能** ExoQuick-TC ULTRA p.11
- 5 血漿用 **フィブリン低減可能** ExoQuick Plasma Prep p.12
- 6 血清・血漿用 **リポタンパク質低減可能** ExoQuick-LP p.12
- 7 組織・細胞培養液/尿/髄液用 ExoQuick-CG **GMP グレード** p.12



ExoQuick / ExoQuick-TC と A 社製品を用いて、ヒト血清または細胞培養液からエクソソームを回収し、CD63 ELISA Kit (p.17 参照) を用いてエクソソーム数を測定した。ExoQuick / ExoQuick-TC の方が、エクソソームの収量が多いことがわかる。
上図 試料：ヒト血清 (500 μl)
下図 試料：PC-3 前立腺がん細胞を7日間培養した細胞培養液 (エクソソーム除去 FBS (Exo-FBS, p.14 参照) を含む DMEM 培地を使用)

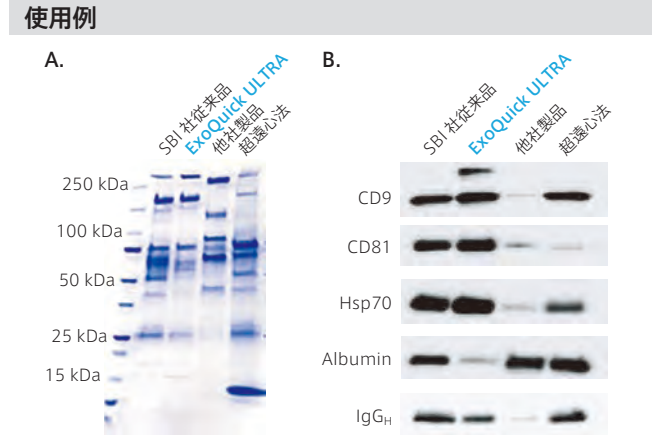
1 血清・血漿用 ExoQuick ULTRA

血清・血漿から純度の高いエクソソームを回収できます。回収したエクソソームはNGS, MS解析に使用できます。

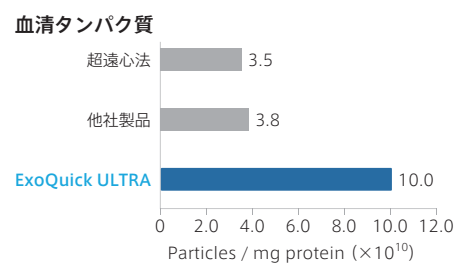
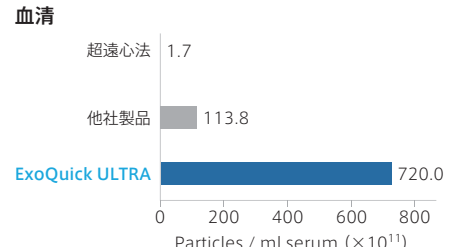
製品の添加量

試料	試料の量	ExoQuick の量
血清・血漿*	250 μl	67 μl

*血漿の場合、Thrombin Plasma Prep (#TMEX0-1) での前処理を推奨します。詳細はフナコシ Web をご覧ください。



各エクソソーム回収法による精製度の違い
A：各方法でエクソソームを回収し、CBB染色によりタンパク質量を確認した。
B：各方法でエクソソームを回収し、ウェスタンブロッティングによりエクソソームマーカーや夾雑タンパク質を半定量した。
本製品で回収したエクソソームには夾雑タンパク質が少ないことがわかる。



各エクソソーム回収法による収量の違い
各方法で血清から EV を回収し、fNTA 法 (蛍光ナノ粒子トラッキング解析法) により EV 粒子数を測定した。
使用した血清または血清タンパク質の量当たりの粒子数をグラフ化した。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoQuick ULTRA EV Isolation Kit for Serum and Plasma (20 reactions)	SBI EQUltra-20A-1	1 kit / 94,000
キット内容：ExoQuick exosome precipitation solution, Purification column, Collection tube, 2 ml Eppendorf tube, Buffer A / B		

2 血清・腹水用 ExoQuick

血清・腹水からエクソソームを回収します。

製品の添加量

試料	試料の量	ExoQuick の量
血清・腹水・血漿*	250 μl	63 μl

* トロンビン処理推奨 (下記 FAQ をご覧ください)

User's Voice

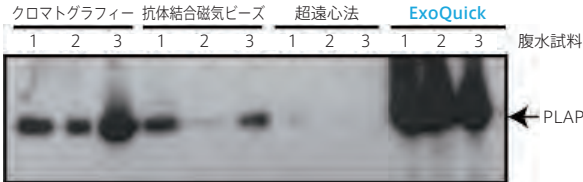
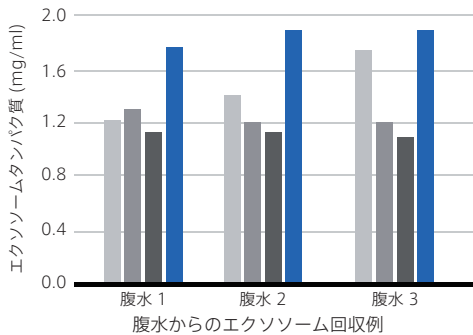
簡便で、超遠心も必要なく、エクソソームの回収が出来ます。

国立大学 泌尿器科学分野



使用例

■ クロマトグラフィー ■ 抗体結合磁気ビーズ ■ 超遠心法 ■ ExoQuick



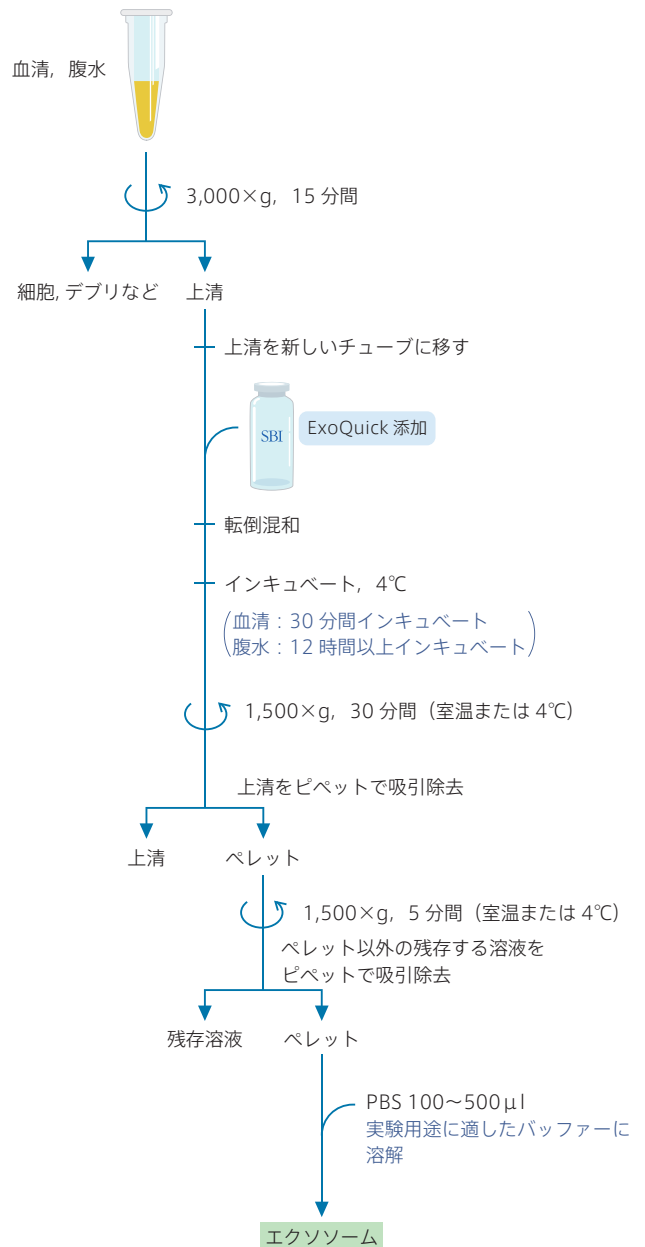
各方法で腹水試料からエクソソームを回収した後タンパク質を抽出し、Bradford 法によるタンパク質の定量 (上図)、およびウェスタンブロットングによりマーカータンパク質胎盤性アルカリホスファターゼ (Placental Alkaline Phosphatase, PLAP) を検出した (下図)。

画像提供: Dr. Douglas Taylor, Exosome Sciences, Inc.

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exosome Precipitation Solution, ExoQuick	SBI	EXOQ5A-1	75 reactions / 5 ml / 62,000
	SBI	EXOQ20A-1	300 reactions / 20 ml / 199,000

操作方法概略

※詳細は製品データシートでご確認ください。



サンプルあり サンプル マークの製品は小包装 (0.5 ml) の無料サンプル品をご用意しています。ご希望の方は当社テクニカルサポート (試薬担当) までお問い合わせ下さい。

ExoQuick シリーズ FAQ

Q. 血漿試料からエクソソームを単離する際の注意点はありますか？

A. 血漿を回収する際にはヘパリンベースではなく、クエン酸や EDTA ベースの抗凝固剤の使用を推奨しています。また ExoQuick 使用前にはトロンビン処理を行って下さい。

Q. 一度凍結した試料から、エクソソームを単離可能ですか？

A. 可能です。試料を解凍後、通常通りプロトコルに従って操作を行って下さい。

Q. EV から NGS 用のライブラリー調整に十分な small RNA を得たい場合、EV 単離にはどのキットが適切でしょうか？

A. ExoQuick はエクソソーム濃縮試薬のため、タンパク質などの夾雑物を除去できません。ExoQuick ULTRA はカラム精製により、バックグラウンドの原因となる夾雑タンパク質を除去するため、純度の高いエクソソームが得られ、収量も増加します。

Q. 単離したエクソソームの保存方法を教えてください。

A. エクソソームはきわめて安定であるため、 -80°C で 1 年以上保存可能です。凍結融解を避けるために、分注して保存して下さい。



3

組織・細胞培養液/尿/髄液用
ExoQuick-TC

組織・細胞培養液/尿/髄液からエクソソームを回収できる試薬です。

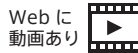
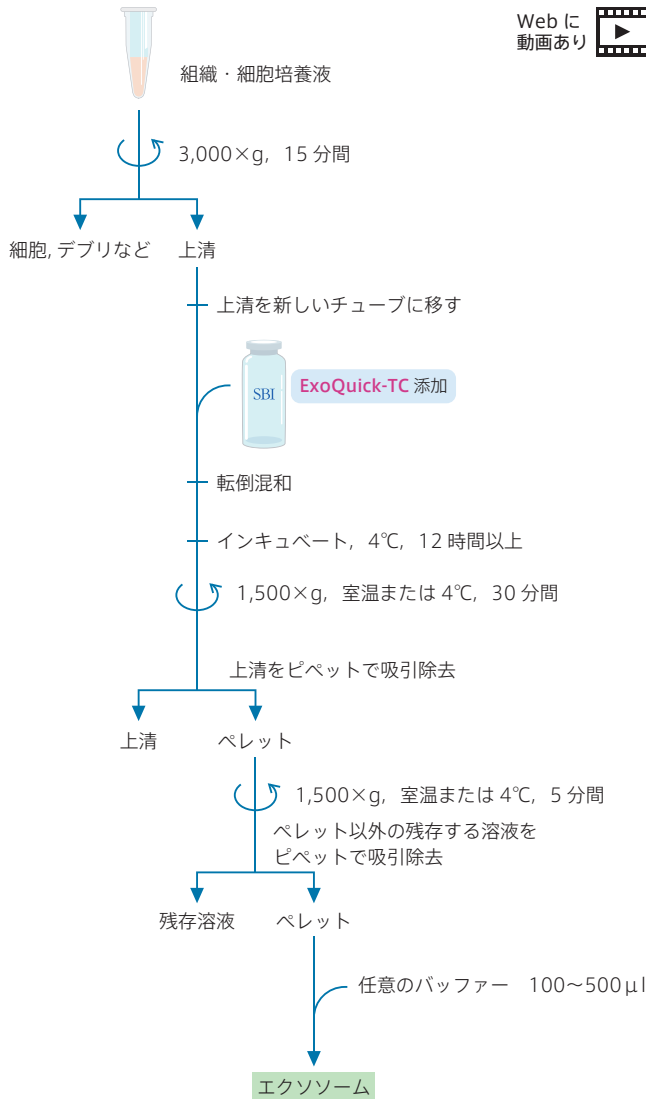
製品の添加量

試料	試料の量	ExoQuick-TCの量
組織・細胞培養液	5 ml / 10 ml	1 ml / 2 ml
尿		
髄液		

※RNA およびタンパク質の解析を行う場合、試料量を 10 ml にすることをおすすめします。

操作方法概略

※詳細は製品データシートでご確認ください。



品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exosome Precipitation Solution, ExoQuick-TC	SBI	EXOTC10A-1	10 reactions / 10 ml / 62,000
	SBI	EXOTC50A-1	50 reactions / 50 ml / 207,000

サンプルあり

マークの製品は小包装 (2 ml) の無料サンプル品をご用意しています。ご希望の方は当社テクニカルサポート (試薬担当) までお問い合わせ下さい。



4

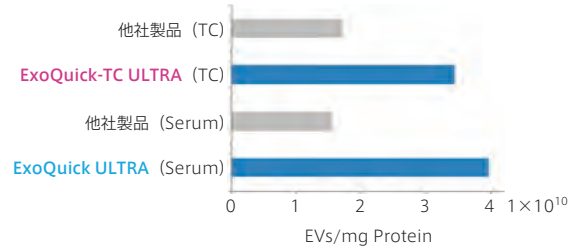
組織・細胞培養液用
ExoQuick-TC ULTRA

ExoQuick-TC (左記) と夾雑物除去用カラムなどがセットになった, エクソソーム回収用キットです。純度の高いエクソソームを簡便かつ高収率で回収できます。回収したエクソソームは NGS, MS 解析に使用できます。

製品の添加量

試料	試料の量	ExoQuick-TCの量
組織・細胞培養液	5 ml	1 ml

使用例



エクソソームの収量の比較

ExoQuick-TC ULTRA, ExoQuick ULTRA (p.9 参照) および他社製品によりそれぞれ細胞培養液 (TC) または血清 (Serum) から調製したエクソソームを, ExoGlow-NTA Fluorescent Labeling Kit (p.27 参照) で蛍光標識後, fNTA 法 (蛍光ナノ粒子トラッキング解析法) で計数し, 用いたタンパク質の量当たりでグラフにした。



エクソソームの収量および夾雑アルブミン量の比較

各方法で調製したエクソソームを, エクソソームに特異的なマーカーである CD63 量と, 夾雑物質であるアルブミン量をウェスタンブロットングにより比較した。ExoQuick-TC ULTRA を用いた場合は最も CD63 量が多い一方で, 夾雑物のアルブミン量は最も少ないことがわかる。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoQuick-TC ULTRA EV Isolation Kit for Tissue Culture Media (20 reactions)	SBI	EQUltra-20TC-1	1 kit / 94,000

キット内容: ExoQuick-TC exosome precipitation solution, Purification column, Collection tube, 2 ml Eppendorf tube, Buffer A / B

Q. ExoQuick と ExoQuick-TC の違いを教えてください。

A. ExoQuick は血清や血漿, 腹水などエクソソーム濃度の高い試料でご使用下さい。

ExoQuick-TC は希薄でエクソソーム濃度の低い組織培養 (細胞培養) 培地, 尿, CSF (脳脊髄液) などでご使用いただけます。

フィブリン低減可能

Web ページ番号 4337



5 血漿用 ExoQuick Plasma Prep

血漿中フィブリンやフィブリノーゲンは、エクソソームの回収率に影響を及ぼします。

本製品はあらかじめ試料中のフィブリノーゲンを凝固させて除去し、エクソソームを回収するためのキットです。

製品の添加量

試料	試料の量	Thrombin の量
血漿	500 µl	4 µl

品名		包装 / 価格 (¥)
メーカー	商品コード	
SBI	EXOQ5TM-1	1 kit / 140,000
キット内容: ExoQuick exosome precipitation solution, Thrombin liquid suspension, 611 U/ml		

リポタンパク質低減可能

Web ページ番号 68504

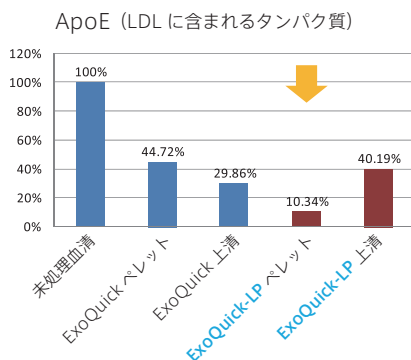
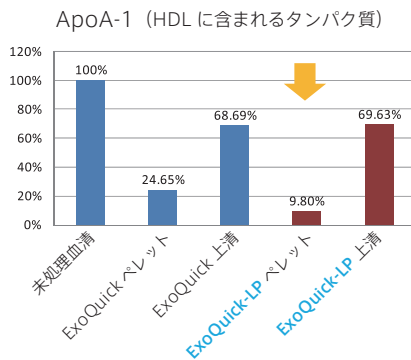


6 血清・血漿用 ExoQuick-LP

血清、血漿中のリポタンパク質中には miRNA が含まれていることが分かっています。回収したエクソソームにリポタンパク質が混入してしまうと、エクソソーム由来 miRNA と思って解析したものが、実はリポタンパク質由来 miRNA であったということがあります。

本製品はあらかじめ試料中のリポタンパク質を除去し、エクソソームを回収するためのキットです。

使用例



血清からエクソソームを回収する際に、本製品に付属の Pre-cleaning reagent を使用して前処理すると、リポタンパク質の混入を低減できることが分かる。

品名		包装 / 価格 (¥)
メーカー	商品コード	
SBI	EXOLP5A-1	1 kit / 86,000
キット内容: ExoQuick exosome precipitation solution, Pre-cleaning reagent A / B, Magnetic bead solution, Wash buffer		

GMP グレード

Web ページ番号 4337



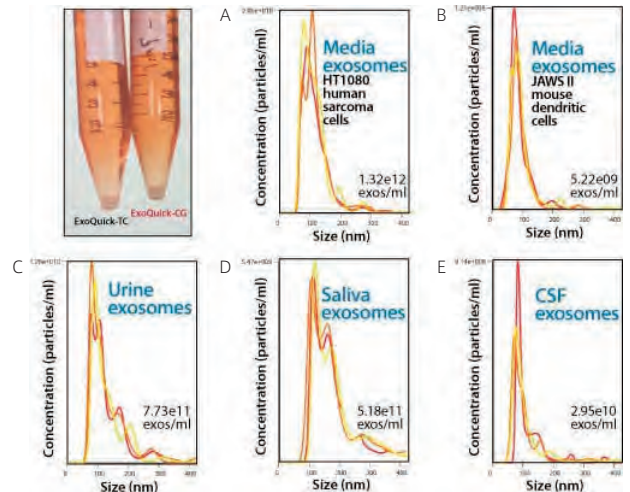
7 組織・細胞培養液/尿/髄液用 ExoQuick-CG

エクソソームを回収するための GMP グレードの試薬です。

製品の添加量

試料	試料の量	ExoQuick-CG の量
組織・細胞培養液	5 ml / 10 ml	1.6 ml / 3.3 ml
尿		
髄液		

※RNA およびタンパク質の解析を行う場合、試料量を 10 ml にすることをおすすめします。



- A: ヒト HT1080 細胞の細胞上清
- B: JAWS II マウス樹状細胞上清
- C: 尿
- D: 唾液
- E: 髄液

A~E の各種試料から、ExoQuick-CG を用いて調製したエクソソームを、NanoSight LM10 により測定した。想定される粒度分布の範囲で、高濃度のエクソソームを回収できていることがわかる。

品名		包装 / 価格 (¥)
メーカー	商品コード	
SBI	EXOCG50A-1	50 ml / 199,000



フナコシ Web でも Check !

エクソソーム特集

実験の目的に沿った製品ラインナップや、用語解説など多数のお役立ち情報を掲載！

フナコシのエクソソーム研究用製品をまとめて紹介しています。

フナコシ Web トップページの Web ページ番号検索欄から！

スマートフォンでも見れます！

Web ページ番号

8298



グラム陰性菌の外膜小胞を単離するキット ExoBacteria OMV Isolation Kit

E. coli や *P. putida* などのグラム陰性菌の培養液から、**外膜小胞 (Outer Membrane Vesicles, OMV)** を単離するキットです。

特長

- 超遠心法に匹敵する純度・収量で、沈殿操作を行わずに重力式 (自然落下式) カラムにより単離できます。
- 1 時間以内に OMV を単離できます。
- 得られた OMV は、細菌間の情報伝達研究、感染症の発症機序研究、改変 OMV を用いたワクチン開発、がん治療、免疫応答の調節などの研究に有用です。
- 培養液 30 ml からの OMV 単離を 20 回行うのに十分な量の試薬とカラム類がキットに含まれています。

MEMO

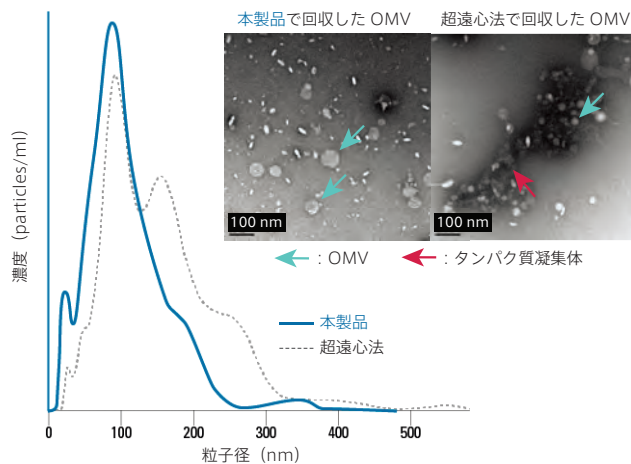
外膜小胞 (OMV) とは

原核細胞は膜小胞であるメンブレンベシクル (Membrane vesicle, MV) を細胞外に形成します。中でもグラム陰性菌の外膜から放出される膜小胞は、OMV とよばれ、細胞間コミュニケーションや宿主細胞への物質輸送などの機能を有しています。近年では OMV をワクチンのプラットフォームとして利用しようとする研究も進められています。

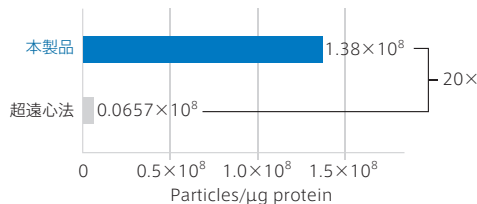
使用例

本製品または超遠心法で単離した *E. coli* 由来 OMV の比較

A. 粒度分布



B. 収量



品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoBacteria OMV Isolation Kit for <i>E. coli</i> and Other Gram-Negative Bacteria (20 reactions)	SBI	EXOBAC100A-1	1 kit / 89,000
キット内容 : OMV binding resin, Binding buffer, Elution buffer, Gravity flow column, Column stopper, Column cap			

※別途、吸引フィルター (0.45 μm および 0.22 μm)、カラム用ラック (静置用、回転攪拌用) が必要です。

密度勾配遠心法によるエクソソーム単離を 効率化する試薬

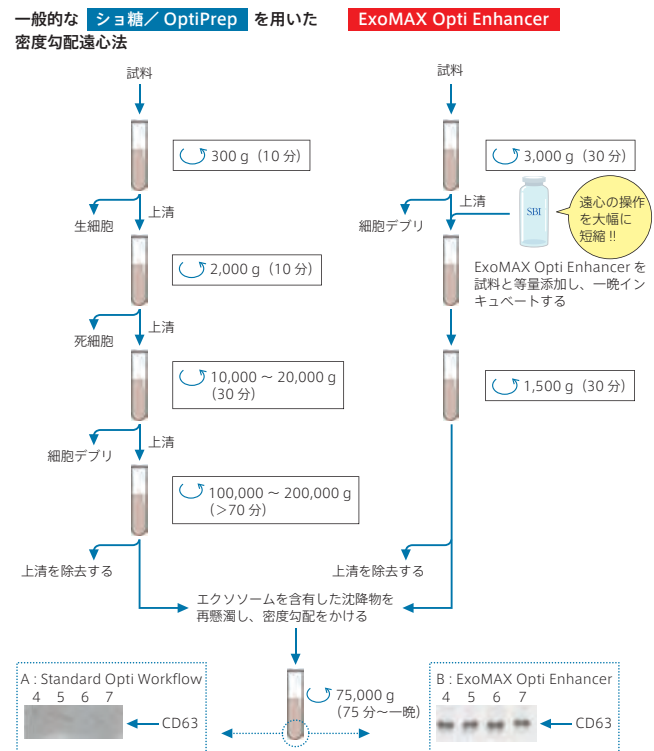
ExoMAX Opti Enhancer

ExoMAX Opti Enhancer を用いることで、一般的なショ糖を用いた密度勾配遠心法における低速遠心分離～超遠心分離を複数ステップ行う操作を短縮でき、さらにエクソソームの収率を上げることができます。

特長

- ウイルスやタンパク質凝集物を含む試料からのエクソソームの分離に有用です。
- 高収率であるため、少量の試料からエクソソームを回収できます。

操作方法概略



使用例



密度勾配にかける前操作で ExoMAX Opti Enhancer または標準的な段階的遠心分離法により、OptiPrep 勾配から得られた 14 個のフラクションのウェスタンブロット解析

密度勾配遠心の前操作として α-Tsg101 (エクソソームの既知のマーカー) のウェスタンブロット解析を実施した。各フラクション (フラクション No.1~7) のバンド強度を見ると、ExoMAX を使用した場合は超遠心分離を使用した場合より高収率を示した。エクソソームは、U1 細胞由来の馴化培地 10 ml から単離したものをを用いた。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoMAX Opti Enhancer Reagent	SBI	EXOMAX12A-1	12 reactions 1 kit / 70,000
	SBI	EXOMAX24A-1	24 reactions 1 kit / 105,000
使用回数は、1 回につき 10 ml 使用した場合。			



Web ページ番号

7160



ポリマー沈殿法

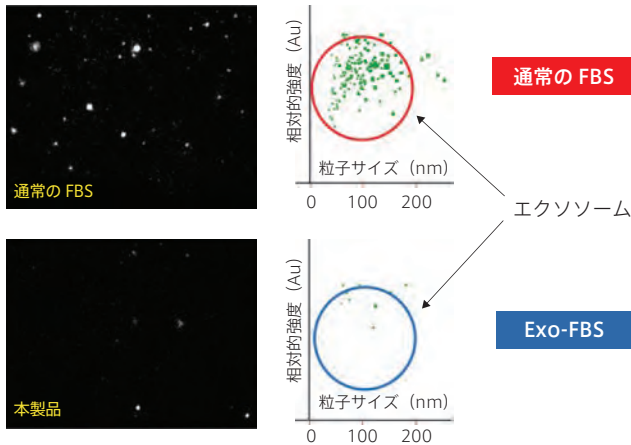
Web ページ番号

67679



ウシ由来エクソソームを除去した FBS Exo-FBS Exosome-Depleted FBS

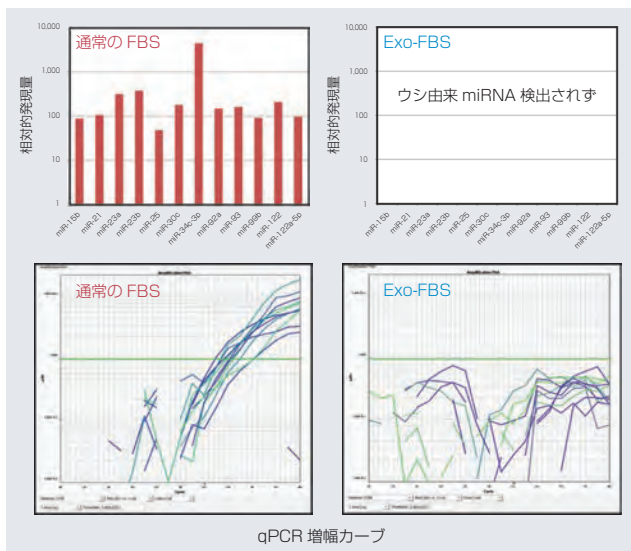
培養細胞を用いてエクソソーム研究を行う際、FBS 中のウシ由来エクソソームはバックグラウンド上昇の原因となります。本製品はウシ由来エクソソームを除去しているため、細胞培養液からのエクソソーム回収に最適です。



NanoSight LM10 (Malvern 社) を用いて、エクソソームサイズの粒子を測定した。本製品ではエクソソームがほとんど除去されていることが分かる。

特長

- CD63 陽性のエクソソームが除去されていることと、ウシ由来 miRNA が検出限界以下であることを確認しています。
- 多くの種類の細胞が、通常の FBS と同様に増殖します。
- 使用法は通常の FBS と同様に、DMEM や RPMI などの培地に 10% 添加するだけです。



通常の FBS および Exo-FBS から RNA を抽出し、定量的 RT-PCR により 12 種類のウシ由来 miRNA の有無を確認した。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exosome-Depleted FBS, Exo-FBS			
SBI	EXO-FBS-50A-1		50 ml / 35,000
SBI	EXO-FBS-250A-1		250 ml / 151,000
Exosome-Depleted FBS, Exo-FBS, Heat Inactivated			
SBI	EXO-FBSHI-50A-1		50 ml / 38,000
SBI	EXO-FBSHI-250A-1		250 ml / 153,000

加熱処理 (65°C, 15 分間) により非働化済み。

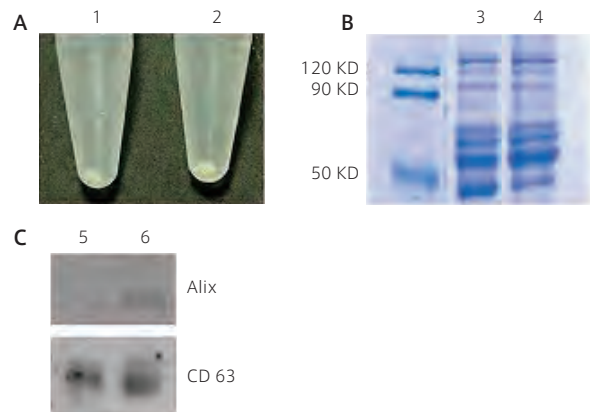
様々な試料からエクソソームを高収率で沈降、分離

Minute Hi-Efficiency Exosome Precipitation シリーズ

生体液や培養細胞の培養液からエクソソームを高収率で沈降、分離する非 PEG ベースの試薬です。本製品でほとんどの試料に使用できます。超遠心は不要です。

※唾液試料については、アミラーゼ、ムチンおよび糖タンパク質を多量に含み、高粘性で操作性が困難なため、専用の Minute Hi-Efficiency Saliva Exosome Precipitation Kit (#SE-030) の使用をお勧めします。

使用例



ヒト血清試料からエクソソームを分離

A: 沈殿物, B: SDS-PAGE, C: ウェスタンブロット像

試料: ヒト血清 100 µl

使用製品: Minute Hi-Efficiency Exosome Isolation Reagent (#EI-027) と他社製品

1, 3, 5...他社製品

2, 4, 6...Minute Hi-Efficiency Exosome Isolation Reagent (#EI-027)

品名	Minute Hi-Efficiency	
	Exosome Precipitation Reagent	Saliva Exosome Isolation Kit
必要試料量	<ul style="list-style-type: none"> ● 血清, 血漿* (>10 µl) ● 腹水 (>50 µl) ● 細胞培養液, 尿, 脊髄液 (>1 ml) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 唾液 (0.1~0.6 ml)

* 血漿には多量の血液凝集関連タンパク質が含まれており、それがエクソソームの沈殿を妨害する場合があります。そのため、Protease K を用いて処理することもできますが、この場合エクソソームの表面タンパク質一部を損失する可能性もあります。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Minute Hi-Efficiency Exosome Isolation Reagent			
IVB	EI-027		20 ml 43,000
Minute Hi-Efficiency Saliva Exosome Isolation Kit			
IVB	SE-030		1 kit 50,000

50 test 分。
キット内容: Exosome precipitation reagent, EFilter cartridge, Collection tube

免疫沈降によるエクソソーム精製

Exo-Flow Exosome IP Kit

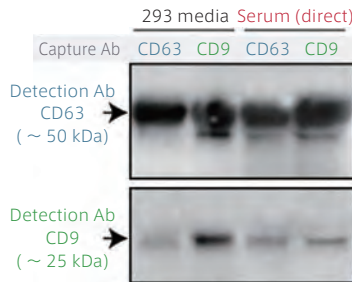
表面マーカー抗体を結合させた磁気ビーズにエクソソームを結合させ、**免疫沈降**により精製します。**通常よりも大きなビーズサイズ**（直径 9.1 μm）のため、**エクソソームの結合効率が良くなっています**。

特長

- 血清、血漿試料に直接ビーズを添加し、免疫沈降させることができます。
- 細胞培養液、尿、脳脊髄液を用いる場合は、あらかじめ試料中のエクソソームを濃縮しておくことをおすすめします*1。
- 精製したエクソソームは、RNA やタンパク質などのバイオマーカーの機能解析に使用できます。

*1 細胞培養液などの試料からのエクソソーム回収には ExoQuick-TC (p.11 参照) がおすすめです。

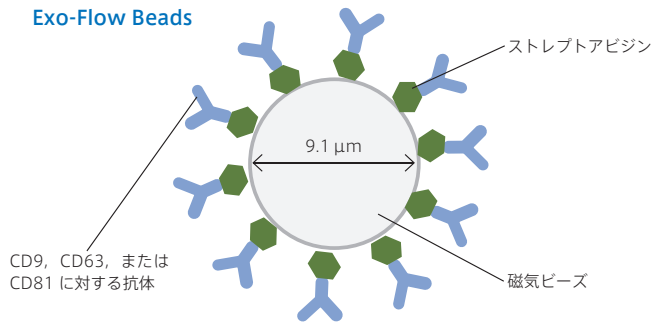
使用例



HEK293 細胞培養液から回収したエクソソームまたは血清から、本製品を用いてエクソソームを免疫沈降した後、ウェスタンブロットングを行った。

Exo-Flow IP Kit

Exo-Flow Beads



品名	メーカー	商品コード	抗体	包装 / 価格 (¥)
Exo-Flow32 IP Kit (32 reactions)				
SBI	EXOFLOW32A-CD9	CD9		1 kit / 106,000
SBI	EXOFLOW32A-CD63	CD63		1 kit / 106,000
SBI	EXOFLOW32A-CD81	CD81		1 kit / 106,000
Exo-Flow96 IP Kit (96 reactions)				
SBI	EXOFLOW96A-CD9	CD9		1 kit / 280,000
SBI	EXOFLOW96A-CD63	CD63		1 kit / 280,000
SBI	EXOFLOW96A-CD81	CD81		1 kit / 280,000

Exo-Flow Tetra IP Kit

抗 CD9 抗体、抗 CD63 抗体、抗 CD81 抗体それぞれをコートした、3 種類の磁気ビーズが含まれるキットです。

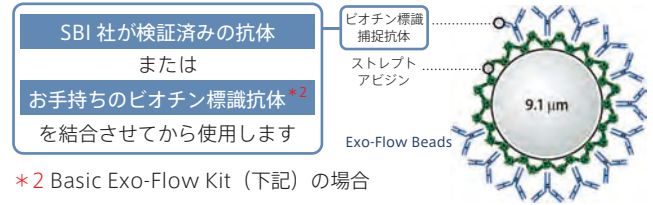
品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exo-Flow32 Tetra IP Kit, CD9/CD63/CD81 (32 reactions)			
SBI	EXOFLOW32A-Tetra		1 kit / 106,000
Exo-Flow96 Tetra IP Kit, CD9/CD63/CD81 (96 reactions)			
SBI	EXOFLOW96A-Tetra		1 kit / 280,000

*別途、磁気プレート (#EXOFLOWMAG-1) が必要です。詳細はフナコシ Web をご覧下さい。

フローサイトメトリーによるエクソソーム精製

Exo-Flow Capture Kit

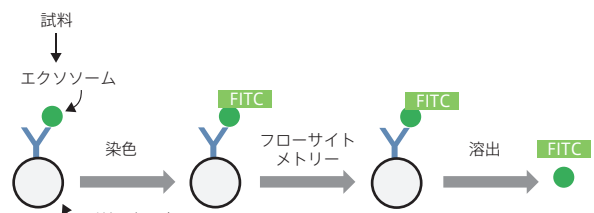
表面マーカー抗体を結合させた磁気ビーズにエクソソームを結合させ、**フローサイトメーター**で精製するキットです。



*2 Basic Exo-Flow Kit (下記) の場合

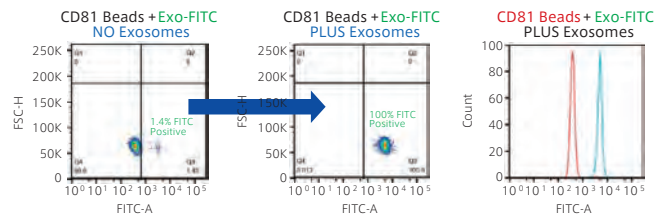
操作方法概略

※詳細は製品データシートでご確認下さい。



※血清などの試料からのエクソソーム回収には ExoQuick (p.10 参照) がおすすめです。

使用例



品名	メーカー	商品コード	抗体	包装 / 価格 (¥)
Exo-Flow Capture Kit (10 tests)				
SBI	EXOFLOW100A-1	CD9		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW610A-1	CD14		10 tests / 90,000
SBI	EXOFLOW200A-1	CD31		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW210A-1	CD44		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW300A-1	CD63		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW620A-1	CD68		10 tests / 90,000
SBI	EXOFLOW660A-1	CD73		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW400A-1	CD81		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW630A-1	EpCAM		10 tests / 90,000
SBI	EXOFLOW500A-1	Rab5b		1 kit / 90,000
SBI	EXOFLOW600A-1	HLA-G		1 kit / 90,000
キット内容: Streptavidin magnetic beads, Biotinylated capture antibody (キットにより異なります), Bead wash buffer, Exosome stain buffer, Exo-FITC universal exosome stain, Exosome elution buffer				
Tetraspanin Combo Kit (10 tests)				
SBI	EXOFLOW150A-1			1 kit / 137,000
抗 CD9 抗体、抗 CD63 抗体、抗 CD81 抗体が付属するキット。				
Basic Exo-Flow Kit (100 tests)				
SBI	CSFLOWBASICA-1			100 tests / 154,000
抗体以外の試薬が含まれるベーシックなキット。 ※別途、ビオチン標識の抗エクソソームマーカー抗体をご用意下さい。				

*別途、磁気スタンド (下記) が必要です。

別売り磁気スタンド

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exo-Flow Multifunctional Magnetic Stand			
SBI	EXOFLOW700A-1		1 kit / 73,000
横置き: 1.5 ml チューブ 12 本を収納可能 縦置き: 15 ml チューブ 2 本 / 50 ml チューブ 1 本を収容可能			



免疫沈降法

フローサイトメトリー

Web ページ番号

68938



フローサイトメトリーにより特定の EV 集団を捕捉するキット Exo-Flow 2.0 EV Analysis Kit

特定の表面マーカーを持つエクソソームなどの細胞外小胞 (EV) を磁気ビーズに結合させ、フローサイトメトリーにより捕捉するキットです。目的の EV 集団以外が磁気ビーズに結合することで、バックグラウンドが低減するように改良されています。

特長

- 従来品の Exo-Flow Capture Kit (p.15 参照) と異なり、血清/血漿由来 EV 用または組織培養上清由来 EV 用それぞれに最適化されたキットがあります。
- フローサイトメトリー用の蛍光染色試薬が含まれています。
- 目的の表面マーカーをもつ EV 集団の存在量が少なくても、効率よく捕捉できます。
- EV 研究やバイオマーカーの探索に有用です。

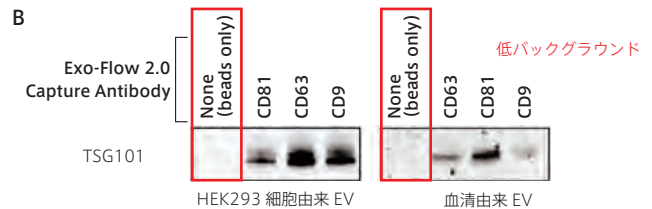
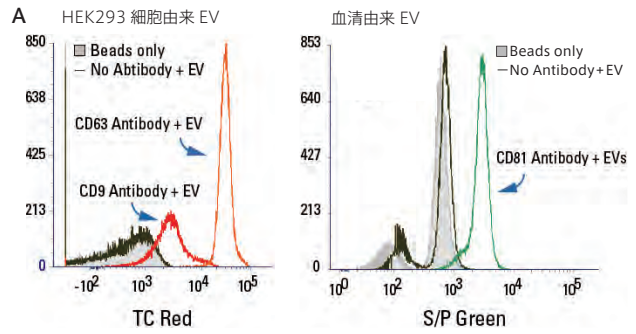
User's Voice

"The new Exo-Flow 2.0 beads are much easier to see during the processing steps (sample capturing, washing, staining, etc.) which prevents accidental loss of the sample. I am also able to acquire more events with the flow cytometer with the new Exo-Flow 2.0 beads."



Ananthu Pucha, DeKalb Veterans Affairs Hospital at Emory University

使用例



HEK293 細胞または血清試料由来の EV から、本製品を用いて特定の表面マーカーをもつ EV を捕捉し、フローサイトメトリーまたはウェスタンブロットティングを行った。

A: フローサイトメトリー結果

磁気ビーズのみの場合 (□) と磁気ビーズと EV のみの場合 (-) でピークが一致しており、磁気ビーズに EV が結合することによるバックグラウンドは低いことがわかる。EV 捕捉に使用した抗体: 抗 CD9 抗体, 抗 CD63 抗体 (左) 抗 CD81 抗体 (右)

B: エクソソーム特異的マーカー TSG101 に対する抗体を用いたウェスタンブロットティング

[メーカー: SBI]

概要	ビオチン標識抗体	商品コード		包装	価格 (¥)
		血清/血漿由来 EV 用	組織培養上清由来 EV 用		
個々の抗体が含まれるキット	CD63	EXOFLOW2-100A-SP	EXOFLOW2-200A-TC	1 kit (10 tests)	93,000
	CD9	EXOFLOW2-105A-SP	EXOFLOW2-205A-TC	1 kit (10 tests)	93,000
	CD81	EXOFLOW2-110A-SP	EXOFLOW2-210A-TC	1 kit (10 tests)	93,000
3 種類の抗体が含まれるキット	CD63/CD9/CD81	EXOFLOW2-150A-SP	EXOFLOW2-250A-TC	1 kit (30 tests)	258,000
お手持ちのビオチン標識抗体と合わせて使用するキット	-	EXOFLOW2-BASICA-SP	EXOFLOW2-BASICA-TC	1 kit (30 tests)	165,000
キット内容	Monoclonal capture antibody*1, ExoFlow 2.0 magnetic capture beads, Wash buffer component A/B, Blocking buffer, Blocking buffer II*2, EV stain buffer*2, EV binding buffer*3, S/P green dye*2, S/P red dye*2, TC green dye*3, TC red dye*3				

*1 キットにより含まれる抗体の種類が異なります。

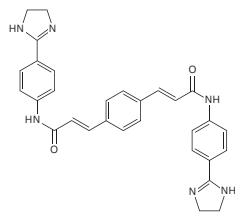
*2 血清/血漿由来 EV 用キットのみ。

*3 組織培養上清由来 EV 用キットのみ。

こちらもオススメ

エクソソームの生合成を阻害 GW 4869

GW4859 は中性スフィンゴミエリンホスホジエステラーゼ (N-SMase) 阻害物質です。多胞性エンドソーム中への出芽と MVB からのエクソソームの放出を阻害します。



Web ページ番号

69350

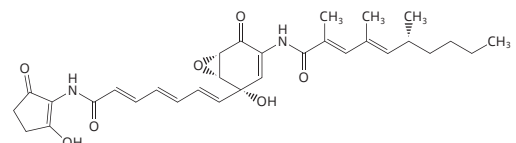


RD SYSTEMS TOCRIS
a biotechnique brand a biotechnique brand

こちらもオススメ

エクソソームの分泌を阻害 Manumycin A

Manumycin A は強力な選択的かつ競合的な細胞透過性の Ras フェルニル転移酵素阻害物質です。



Web ページ番号

52367



AdipoGen®
LIFE SCIENCES



細胞外小胞の単離に使用できる Tim-4 組換え体タンパク質

ヒト IgG₁ の Fc 領域を融合させたマウス Tim-4 組換え体タンパク質のビオチン標識物です。Tim-4 はホスファチジルセリン (PS) と結合する性質があるため、PS を表面に持つ細胞外小膜の分離に使用できます。

MEMO

Tim-4 (T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 4) は、免疫グロブリンスーパーファミリーおよび TIM ファミリーに属する I 型膜貫通タンパク質です。Ig (免疫グロブリン) 様の V 型ドメインを 1 つ含み、樹状細胞およびマクロファージにおいて発現されます。Tim-4 は、ヘルパー T2 型 (Th2) 細胞の増殖において重要な役割を果たします。また、アポトーシス細胞上でホスファチジルセリン (PS) にカルシウム依存的に結合し、アポトーシス細胞の食作用を媒介します。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
Tim-4 (Mouse) / Fc (Human), Recombinant, Biotin Conjugated		
KOM AG-40B-0180B-C010		10 µg / 54,000
KOM AG-40B-0180B-3010		3×10 µg / 108,000
産生: CHO 細胞, M.W.: 約 95 kDa (SDS-PAGE), 純度: ≧95% (SDS-PAGE)		



エクソソーム量を推定するキット

エクソソーム表面のタンパク質量またはエクソソーム中の AChE 活性を測定し、エクソソーム量を推定するキットです。キットには、NanoSight により測定したエクソソーム数をもとにキャリブレーションされたスタンダードとして含まれています。

品名	ExoELISA	ExoELISA-ULTRA	EXOCET	FluoroCet
測定対象	CD9 / CD63 / CD81 のタンパク質量	CD63 / CD81 のタンパク質量	エクソソーム中の AChE 活性	
検出方法	比色		比色	蛍光
測定波長	450 nm		405 nm	励起 530~570 nm 蛍光 590~600 nm
操作時間	24 時間	4 時間	20 分	1 時間
測定に必要な試料量 (タンパク質量)	>500 µg	1~200 µg	50 µg	<1 µg
交差性	Human / Mouse / Rat	Human	Human / Mouse / Rat	
使用文献数		CD63 CD81		—
Web ページ番号	5537	65039	53137	64841

※試料からのエクソソームの回収には ExoQuick (p.10 参照) または ExoQuick-TC (p.11 参照) がおすすめです。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoELISA ELISA Kit (96 reactions)		
SBI EXOEL-CD9A-1	CD9	1 kit / 132,000
SBI EXOEL-CD63A-1	CD63	1 kit / 132,000
SBI EXOEL-CD81A-1	CD81	1 kit / 132,000
キット内容: Primary antibody*, HRP-conjugated secondary antibody, ExoELISA protein standard*, Blocking buffer, Exosome binding buffer, Wash buffer, TMB ELISA substrate, Stop buffer, ELISA plate ※受注発注品		
ExoELISA-ULTRA ELISA Kit (96 reactions)		
SBI EXEL-ULTRA-CD63-1	CD63	1 kit / 117,000
SBI EXEL-ULTRA-CD81-1	CD81	1 kit / 117,000
キット内容: Primary antibody*, HRP-conjugated secondary antibody, ExoELISA-ULTRA protein standard*, Blocking buffer, Coating buffer, Wash buffer, TMB ELISA substrate, Stop buffer, ELISA plate		

*キットにより異なります。

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
EXOCET Exosome Quantitation Kit (96 reactions)		
SBI EXOCET96A-1		1 kit / 84,000
キット内容: Exosome lysis buffer, EXOCET buffer A / B, EXOCET standard, 96 well assay plate (12×8 strips), PBS-B buffer		
FluoroCet Exosome Quantitation Kit (96 reactions)		
SBI FCET96A-1		1 kit / 119,000
キット内容: Exosome lysis buffer, FluoroCet buffer A / B, FluoroCet standard, Opaque 96 well plate, Detection reagent, Reaction buffer, Acetylcholine chloride		



Web ページ番号

46016



Web ページ番号

67053



エクソソームを検出する抗体アレイ Exo-Check

エクソソームマーカーを半定量的に検出できる抗体アレイです。わずか 50 µg のエクソソームタンパク質から **エクソソームの回収が適切に行われたかを確認** できます。

- 8 種類のエクソソームマーカーがスポットされています。

アレイマップ

	1	2	3	4	5	6
A	Positive control	GM130	FLOT-1	ICAM1	ALIX	CD81
B	CD63	EpCAM	ANXA5	TSG101	Blank	Positive control



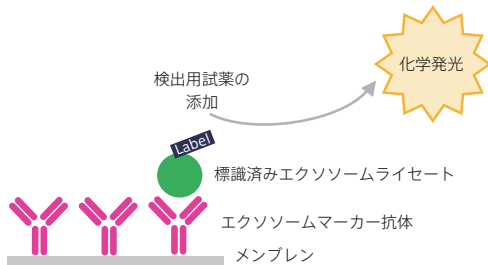
試料：正常ヒト血清から回収したエクソソームタンパク質 50 µg

一般的なエクソソームマーカー

細胞内成分のコンタミネーションの指標

測定原理

エクソソームマーカー検出用のスポット



ポジティブコントロール用のスポット



キット内容

- Lysis buffer
- Labeling reagent
- Column
- Column buffer
- Blocking buffer
- Wash buffer
- Detection reagent A / B
- Membrane

※別途, HRP 化学発光試薬が必要です。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exo-Check Antibody Array	SBI	EXORAY200B-4	4 tests / 87,000
	SBI	EXORAY210B-8	8 tests / 164,000

※受注発注品

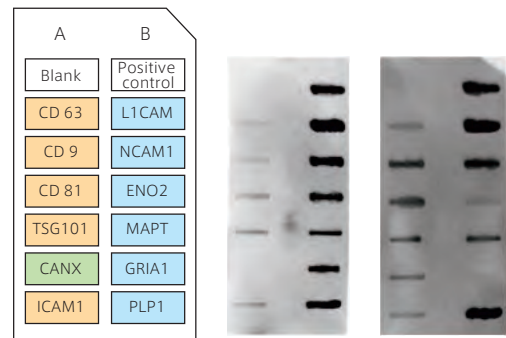
ニューロン由来エクソソームを検出する抗体アレイ Exo-Check Neuro

わずか 10 µg のタンパク質でニューロン特異的なエクソソームマーカーと、一般的なエクソソームマーカーを、同時に検出できる抗体アレイです。

特長

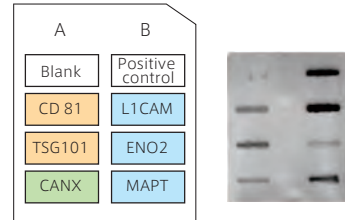
- Standard-array では 11 種類, Mini-array では 5 種類のエクソソームマーカーを検出することができます。
- 各マーカー抗体がメンブレンにスポットされています。

Standard-array



試料：ヒト血清由来細胞外小胞 (EV)
アレイに添加したエクソソームタンパク質量：10 µg または 50 µg

Mini-array



試料：ヒト血清由来 EV
アレイに添加したエクソソームタンパク質量：50 µg

ニューロン由来エクソソームマーカー

一般的なエクソソームマーカー

細胞内成分のコンタミネーションの指標

キット内容

- Lysis buffer
- Labeling reagent
- Column
- Column buffer
- Blocking buffer
- Wash buffer
- Detection buffer
- Membrane

※別途, HRP 化学発光試薬が必要です。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exo-Check Exosome Antibody Array, Neuro, Standard	SBI	EXORAY500A-4	4 tests / 113,000
	SBI	EXORAY500A-8	8 tests / 195,000
Exo-Check Exosome Antibody Array, Neuro, Mini	SBI	EXORAY510A-4	4 tests / 74,000
	SBI	EXORAY510A-8	8 tests / 128,000



Web ページ番号

66042



エクソソームマーカー抗体

試料からエクソソームを回収できたか、ウェスタンブロッティングで確認するための抗体です。

ラインナップ

[メーカー：SBI]

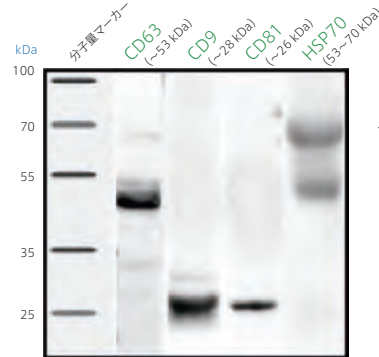
一般的なエクソソームマーカー			
マーカー分子	商品コード	包装	価格(¥)
CD9	EXOAB-CD9A-1	25 µl	30,000
CD63	EXOAB-CD63A-1	25 µl	30,000
CD81	EXOAB-CD81A-1	25 µl	30,000
HSP70	EXOAB-Hsp70A-1	25 µl	30,000
ALIX	EXOAB-ALIX-1	25 µl	30,000
ANXA5	EXOAB-ANXA5-1	25 µl	30,000
TSG101	EXOAB-TSG101-1	25 µl	30,000
FLOT-1	EXOAB-FLOT1-1	25 µl	30,000
組織特異的なエクソソームマーカー			
マーカー分子	商品コード	包装	価格(¥)
CXCR4	EXOAB-CXCR4-1	25 µl	30,000
EpCam	EXOAB-EPCAM1-1	25 µl	30,000
Vimentin	EXOAB-VMTN-1	25 µl	30,000

※製品には検出用二次抗体として HRP 標識抗ウサギ Ig ヤギポリクローナル抗体 (5 µl) が付属しています。

特長

- ヒト, マウス由来エクソソームに交差します。
- 免疫動物：Rabbit-Polyclonal

抗体のセット品



試料：血清由来エクソソーム

セット内容

- 抗 CD63 抗体 (25 µl)
- 抗 CD9 抗体 (25 µl)
- 抗 CD81 抗体 (25 µl)
- 抗 HSP70 抗体 (25 µl)
- HRP 標識抗ウサギ Ig ヤギポリクローナル抗体 (5 µl×4)

[メーカー：SBI]

品名	商品コード	包装	価格(¥)
ExoAB Antibody Kit	EXOAB-KIT-1	1 kit	102,000



Web ページ番号

65555

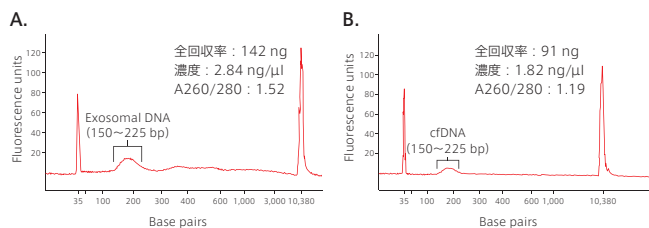


エクソソーム DNA を精製するキット

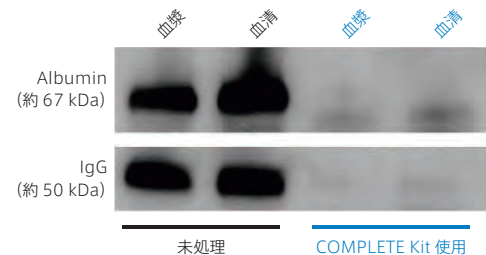
XCF Exosome DNA Isolation Kit

精製したエクソソームからアルブミンや IgG などの夾雑タンパク質を最小限に抑えて DNA を精製できます。得られた DNA は、qPCR や次世代シーケンシングに使用できます。

COMPLETE Kit (#XCF100A-1) はエクソソーム DNA だけでなく、セルフリー DNA (cfDNA) も精製できます。



COMPLETE Kit (#XCF100A-1) を用いてヒト血清からエクソソーム DNA (A) および cfDNA (B) を精製した例



ヒトアルブミンおよび重鎖 IgG のキャリーオーバーの検証

COMPLETE Kit (#XCF100A-1) で処理した試料では、各タンパク質のキャリーオーバーが著しく少ないことがわかる。

[メーカー：SBI]

	精製したエクソソームから DNA を精製	血清, 血漿からエクソソーム DNA と cfDNA を精製
品名	XCF Exosome DNA Isolation Kit	XCF COMPLETE Exosome & cfDNA Isolation Kit
出発試料	精製済みエクソソーム	血清, 血漿
試料量	500 µl (5~11×10 ¹² particles/ml)	500 µl
精製できるもの	エクソソーム DNA	エクソソーム DNA および cfDNA
キット内容	<ul style="list-style-type: none"> ・ DNA binding buffer ・ Concentrated wash buffer ・ Elution buffer ・ Spin column (20 columns) ・ Collection tube (20 tubes) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ DNA binding buffer ・ Concentrated wash buffer ・ Elution buffer ・ Spin column (40 columns) ・ Collection tube (40 tubes) ・ Reagent A ・ ExoQuick (6 ml)
商品コード	XCF200A-1 ×	XCF100A-1 ×
包装/価格(¥)	20 tests / 60,000	20 tests / 105,000

エクソソーム RNA の精製から、cDNA 合成まで行える SeraMir Exosome RNA Amplification Kit

エクソソーム内の RNA を精製した後、**定量的 RT-PCR 用の一本鎖 cDNA** および **T7 *in vitro* 転写用の二本鎖 cDNA** を合成できるキットです。一本鎖 cDNA が合成できるキットには、RT-PCR 用のプライマーがセットになっています。

1 エクソソームの回収



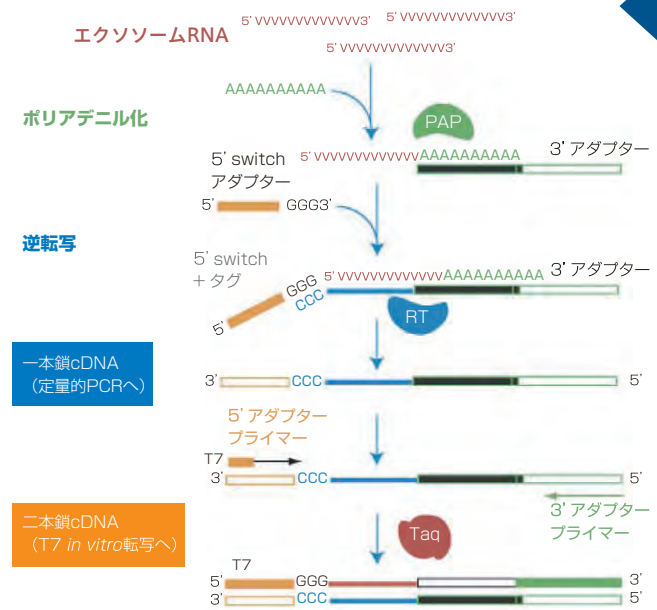
2 RNA の精製

フェノールを使用する方法よりも、高純度の small RNA を精製できます。

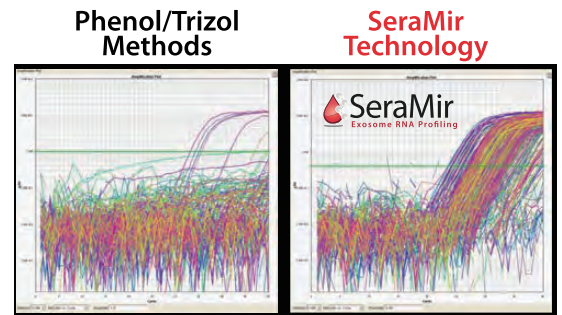


3 cDNA 合成

RNA リガーゼを使用しないため、アダプター配列の重複結合によるアーティファクトが生じません。



4 miRNA の解析



血清試料から本製品 (右) またはフェノールを使用した従来法 (左) により RNA を抽出し、380 種類のヒト miRNA について発現プロファイリングを行った。

[メーカー: SBI]

出発試料	キット内容				商品コード	包装	価格 (¥)
	1 エクソソーム抽出試薬	2 RNA 精製用カラム・試薬	3 cDNA 合成・増幅試薬	4 380 種類の miRNA プライマー			
血清・腹水	ExoQuick	●	●	—	RA800A-1	1 kit	153,000
細胞培養液・尿	ExoQuick-TC	●	●	—	RA800TC-1	1 kit	108,000
血清・腹水	ExoQuick	●	—	—	RA806A-1	1 kit	89,000
細胞培養液・尿	ExoQuick-TC	●	—	—	RA806TC-1	1 kit	89,000
—	—	●	—	—	RA808A-1	1 kit	62,000
血清・腹水	ExoQuick	●	●	Human	RA820A-1	1 kit	220,000
細胞培養液・尿	ExoQuick-TC	●	●	Human	RA820TC-1	1 kit	276,000
血清・腹水	ExoQuick	●	●	Mouse	RA821A-1	1 kit	220,000
細胞培養液・尿	ExoQuick-TC	●	●	Mouse	RA821TC-1	1 kit	276,000
血清・腹水	ExoQuick	●	●	Rat	RA822A-1	1 kit	220,000
細胞培養液・尿	ExoQuick-TC	●	●	Rat	RA822TC-1	1 kit	276,000

エクソソームなどから total RNA を精製するキット

EVERYRNA EV RNA Purification System

エクソソームなどの細胞外小胞 (EV) から total RNA を精製するキットです。



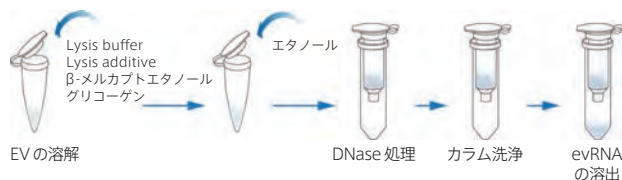
特長

- 30分以内で純度の高い RNA を抽出できます。
- ExoQuick*, SmartSEC*, 超遠心分離などで抽出したエクソソームから, RNA を抽出できます。
- カラムベースの方法でフェノールベースの抽出法と同等の RNA を抽出できます。

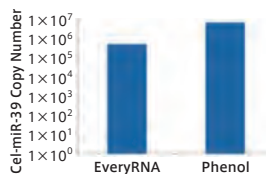
*これらが付属するキットもあります。

ExoQuickの詳細 → p.10~
SmartSECの詳細 → p.7~

操作方法概略

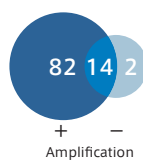


使用例



EVERYRNA Purification System を用いて EV から RNA を抽出した。次に EVERYRNA cDNA Synthesis & Pre-Amplification Kit を用いて逆転写を行い, 増幅した Cel-miR-39 のコピー数を測定した。EVERYRNA はフェノールベースの抽出法と同等の RNA を抽出できた。

試料: SmartSEC を使用して血清から抽出した EV に Cel-miR-39 を添加した試料



EV 分離方法	分離した RNA 量	リード数	FAST-QC
ExoQuick	4.3	53,349,528	Passed
ExoQuick Ultra	5.4	107,154,128	Passed
SmartSEC Single	5.2	98,886,924	Passed

SmartSEC を用いて血清から EV を抽出し, EVERYRNA Purification System を用いて EV から RNA を抽出した。次に EVERYRNA cDNA Synthesis & Pre-Amplification Kit を用いて逆転写を行い, 続いて SeraMira Kit (#RA810A-1, Web ページ番号: 5193) を用いて miRNA 発現量を確認した。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
EVERYRNA EV RNA Purification System			
SBI	EVERY100A-1	✗	1 kit / 75,000
SBI	EVERY106EQ-1	✗ with ExoQuick	1 kit / 99,000
SBI	EVERY106TC-1	✗ with ExoQuick-TC	1 kit / 99,000
SBI	EVERY110SS-1	✗ with SmartSEC Single	1 kit / 99,000
EV から RNA を抽出するキット			
EVERYRNA cDNA Synthesis & Pre-Amplification Kit			
SBI	EVERY200A-1		1 kit / 56,000
エクソソーム由来 RNA から cDNA を合成するキット			
EVERYRNA EV RNA Purification System & cDNA Synthesis Kit			
SBI	EVERY300A-1	✗	1 kit / 127,000
#EVERY100A-1 と #EVERY200A-1 のセット			

エクソソーム RNA の次世代シーケンス 解析受託サービス

Exo-NGS <Exosomal RNA Sequencing Service>

試料からエクソソームを単離し, Illumina 社の次世代シーケンサー (MiSeq / HiSeq) により, エクソソーム RNA 関連バイオマーカーの同定を行う受託サービスです。

特長

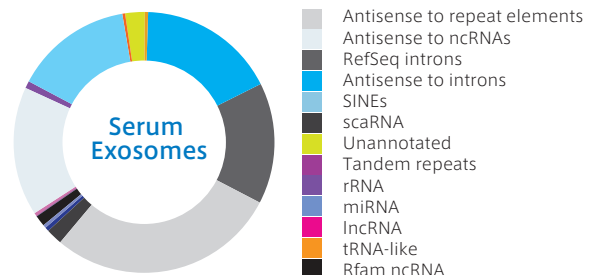
- 血清, 尿などに含まれる新規エクソソーム RNA の同定, モデル細胞システムや動物体液に含まれるエクソソーム中のバイオマーカー存在分布などの分析を, 迅速に行います。
- 本サービスにより得られたデータは, クラウドベースの UCSC Genome Browser でご覧いただけます。

お客様にご提供いただく試料の目安

試料	必要量	試料	必要量
血清	500 µl ~ 1 ml	尿	5 ml ~ 10 ml
血漿		脳脊髄液 (CSF)	
腹水		細胞培養液 (無血清)	

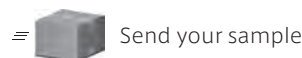
※上記以外の試料については, お問い合わせ下さい。

解析データ例

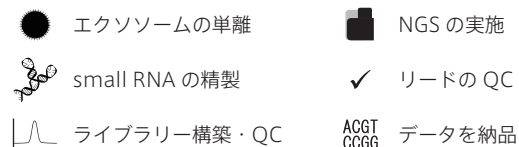


サービスの流れ

1. 試料をフナコシへお送りいただきます。



2. SBI 社において解析を行います。



ご注文方法/価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。
[メーカー: SBI]



NGS 用 RNA ライブラリーを バイアスなしに構築できる逆転写酵素 TGIRT-III

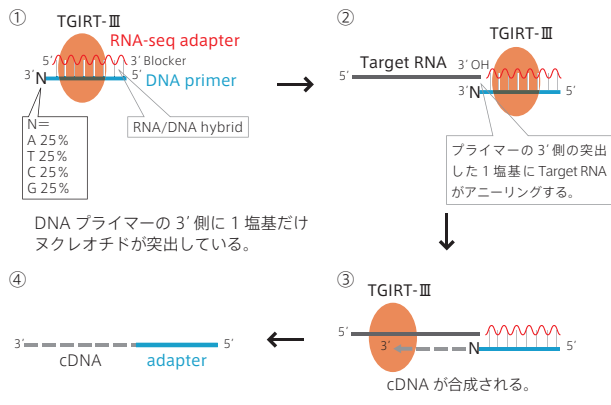
エクソソーム由来 RNA などから、Illumina 社の次世代シーケンス (NGS) プラットフォームに対応したライブラリーを作成に有用です。

※TGIRT (Thermostable Group II Intron Reverse Transcriptase)

MEMO

TGIRT-III による Template Switching 活性

miRNA や tRNA, snoRNA のような poly (A) tail が無い RNA の cDNA ライブラリーを構築する場合、逆転写反応前に共通のアダプター配列を RNA の末端に導入する必要があります (Template switching)。従来は T4 リガーゼがアダプターの付加に用いられていますが、アダプター付加の段階にバイアスが生じることが問題視されています。TGIRT-III は逆転写反応の際に、RNA アダプターと DNA プライマーのハイブリッドプライマーを用いることにより、別途 RNA アダプターを付加する反応を必要とせずに、cDNA の 5' 末端にアダプターを付加することができます。



アプリケーション例

- 網羅的なストランド特異的トランスクリプトーム解析
- RNA-seq (エクソソーム由来 RNA, 細胞由来 RNA, 血漿中 RNA, 細胞外 RNA の解析)
- snRNA の網羅的ライブラリー構築
- RNA 構造マッピング
- 一般的な RT-PCR や qRT-PCR

製品ラインナップ

■TGIRT-III 酵素単品

※RNA アダプターと DNA プライマーは別途ご用意下さい。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
TGIRT-III Enzyme			
IGX	TGIRT10	-80°C 10 reactions	10 µl / 44,000
IGX	TGIRT50	-80°C 50 reactions	50 µl / 139,000

■TGIRT Template-Switching RNA-seq Kit

Illumina 社 R2 アダプター用の RNA-Seq ライブラリー調製用キットです。

※Illumina 社 R1R DNA オリゴは別途ご用意下さい。

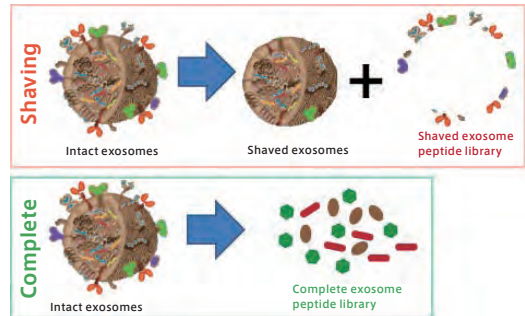
品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
TGIRT Template-Switching RNA-seq kit, ver.3			
IGX	kTGIRT-10	-80°C 10 tests	1 kit / 44,000
IGX	kTGIRT-25	-80°C 25 tests	1 kit / 123,000

キット内容: TGIRT-III enzyme, Primer mix, Reaction buffer, DTT

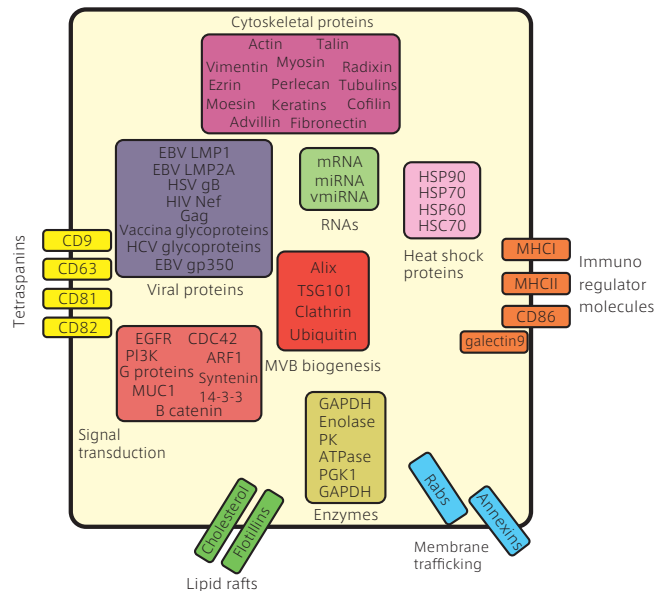
エクソソームの膜タンパク質・ 総タンパク質の質量分析サービス

Exosome Proteomics Service

エクソソームのタンパク質・ペプチド (Complete) のバイオマーカー探索に有用な MS 分析受託サービスです。



エクソソームから切り取った表面 (Shaving) およびすべてのペプチドライブラリー (Complete) の模式図



エクソソームタンパク質の含有量は、由来する細胞の種類によって異なります。一般的なエクソソームにおいては、上図のような表層および内部共通タンパク質の観察や MS データによる同定が可能です。

特長

- 本サービスには、お預かりした試料からエクソソームを精製するステップも含まれます。
- ヒト、マウス、ラットの試料にて多数の実績があります。その他の生物種由来の試料については、お問い合わせ下さい。
- Raw データと解析結果をお届けします。

ご提供いただく試料の目安

試料*	必要試料量
血清, 血漿, 腹水	0.5~1 ml
細胞培養上清 (無血清), 尿, 脳脊髄液	5~10 ml

*その他の試料については、お問い合わせ下さい。

ご注文方法/価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

※別途、送料が必要となります。

[メーカー: SBI]



リーズナブルな価格で網羅的かつ高感度に
タンパク質の同定が可能

LC-MS を用いた最先端定量 プロテオーム受託解析サービス

最新鋭の質量分析装置を用いて、網羅的なタンパク質解析を行う受託サービスです。

ここがすごい

世界最高レベルの感度・同定数・定量数

タンパク質・リン酸化タンパク質同定数で世界一の実績を有しています (Nature 2014, Sci Rep 2017 他)。

日本プロテオーム学会で精力的に活動을続けており、これまで学会賞1度(2015年)、奨励賞4度(2014年、2015年、2017年、2020年)受賞しています。

特長

- 最新鋭 LC-MS (Orbitrap Fusion™ Lumos™, Thermo Fisher Scientific 社) 3 台を含む、計 8 台の最新 LC-MS を用いた定量プロテオーム解析です。
- ショットガン解析による網羅的なタンパク質解析によって、二次元電気泳動を必要とせず、~10,000 種のタンパク質、~4,000 種類のエクソソーム由来タンパク質、~25,000 のリン酸化サイト、~1,500 のチロシンリン酸化サイトを検出することができます。
- 細胞、組織などの試料だけでなく、**エクソソーム**などの微量な試料の解析も可能です。
- プロテオーム解析専門家による実験デザイン、データの解釈、インフォマティクスを用いたパスウェイ解析などのご相談も承ります。
- バイオマーカー探索をはじめとした創薬アプリケーションに有用です。

解析内容

ショットガンプロテオミクス

- ・網羅的タンパク質定性・比較定量解析
- ・網羅的リン酸化タンパク質定性・比較定量解析
- ・網羅的タンパク質間相互作用解析

ターゲットプロテオミクス

- ・タンパク質相対定量、絶対定量解析
(興味のあるタンパク質にターゲットを絞ったより精度の高いタンパク質・リン酸化タンパク質定量解析)

解析対象試料

- ・動物種：ヒトやマウスなど
- ・試料の種類：血清・血漿^{*1}、組織、培養細胞および培養上清^{*2}、細胞外小胞 (エクソソーム)、SDS-PAGE 試料 (インゲル消化)

^{*1} 血清・血漿の解析対象は細胞外小胞 (エクソソーム) に限ります。

^{*2} 培養上清の解析は無血清培地に限ります。ただし、解析対象が細胞外小胞 (エクソソーム) の場合は、血清を含む培地でも解析可能です。

ご注文方法/価格

詳細は、当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

[メーカー：FIK]

miRNA-Seq 解析受託サービス (ヒト/マウス)

遺伝子発現に大きく影響を与えられている miRNA を、次世代シーケンサーにより網羅的に解析します。**エクソソーム分画**の解析も可能です。

解析の流れ

1. サンプルライブラリーチェック
2. シーケンスライブラリー調製
3. NextSeq によるシーケンス
4. データ解析
 - miRNA のリードカウントおよび正規化
 - small RNA の分類
 - 階層的クラスタリング & 主成分分析 (PCA)^{*3}
 - Fold Change (および t 検定^{*4}) による発現変動遺伝子抽出
 - 標的遺伝子予測 (オプション)
 - 予測された標的遺伝子の GO 解析/Pathway 解析 (オプション)

^{*3} 6 検体以上で実施

^{*4} t 検定は n=3 以上の場合に実施

必要試料量について

- ・total RNA : 10 μl 以上

RNA 量	濃度	OD _{260/280}	RIN 値
1 μg 以上	100 ng/μl 以上	1.5 以上	8 以上

- ・small RNA : 10 μl 以上

- ・血清/血漿 : 2 ml

※試料の QC に使用するため、ライブラリー調製のインプット (1 ng~500 ng) 以上の RNA 量が必要です。

※TE バッファーなどの EDTA を含むバッファーに溶解した場合、データが取得できない可能性があります。

※試料は Nuclease Free Water に溶解し、冷凍便でご送付下さい。

※試料量が規定に満たない場合はご相談下さい。

ご注文方法/価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。

[メーカー：DNA]

↓ココを選択!

Web ページ番号検索

SEARCH

各記事右上の Web ページ番号を入力

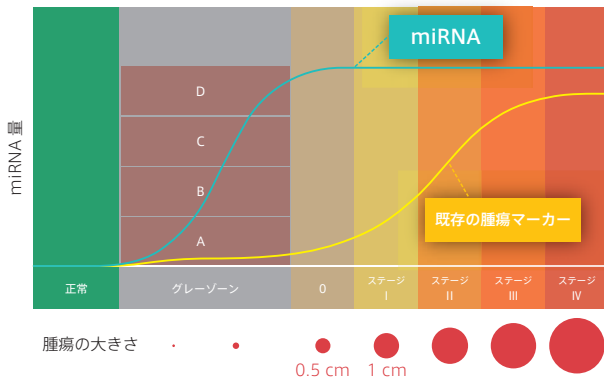
検索

各製品の詳細は、フナコシ Web のタブから簡単に検索できます!

miRNA 発現解析受託サービス： ミアテスト

血清または血漿中の miRNA を精製し、qRT-PCR や次世代シーケンサーにより発現解析を行うサービスです。血清や血漿中には、miRNA を含んだ**エクソソーム**やフリーの miRNA が存在し、バイオマーカーとして注目されています。

※本サービスは研究用です。研究用以外には利用できません。



サービスの種類

ご使用になる試料や解析の目的に合わせて、解析の方法やスケールをデザインしてご提案します。

- 血清・血漿などに存在する miRNA の精製
- miRNA の網羅的解析 (種類についてはご相談下さい)
- 特定の miRNA の発現解析

ご注文方法/価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。
[メーカー：MRT]

エクソソーム糖鎖解析 受託サービス

エクソソームに存在する構成単糖，糖鎖組成を明らかにする受託サービスです。

受託サービス内容

- エクソソームに含まれる糖鎖を単糖まで分解，蛍光ラベル化し，UPLC にて解析します。また，エクソソームから切り出した糖鎖を Glycoblotting 法で捕捉，ラベル化し質量分析装置にて解析します。
- 納品物：報告書

※解析に使用するエクソソームは、「お客様ご自身に抽出いただく場合」と「エクソソーム抽出を医化学創薬(株)で実施する場合」の2通りから選択可能です。医化学創薬(株)で実施する場合は、市販キット(System Biosciences 社)を使用いたします。

ご注文方法/価格

詳細は当社受託・特注品担当までお問い合わせ下さい。
[メーカー：MCP]



© 樹庵じゅあん

Summer Campaign

~2021年9月17日(金)

20% OFF

セロロジカルピペット

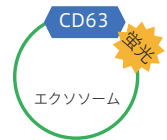
33% OFF

冷却遠心分離機

アガロースプレキャストゲルの
引き換えクーポン付き!!

小型アガロースゲル
電気泳動装置
フナサブマリン

エクソソームのトラッキングに最適 Exosome Cyto-Tracer



エクソソーム膜表面タンパク質 (CD9/CD63/CD81) と蛍光分子 (GFP/RFP) の融合タンパク質を
発現させる製品です。細胞内・細胞外のエクソソームを蛍光によりモニタリングできます。

MEMO

Cyto-Tracer とは

GFP/RFP 融合トレーサータンパク質を発現させるベクターです。Cyto-Tracer を細胞内に導入することで、化学染色することなく、標的器官を蛍光顕微鏡でリアルタイムに観察できます。

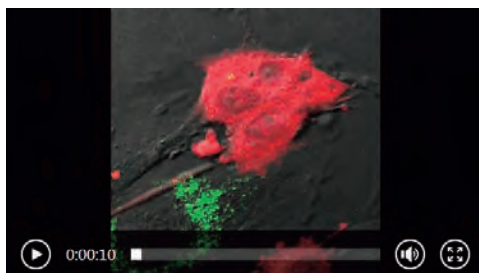
※エクソソーム以外のオルガネラ標的 Cyto-Tracer は Web ページ番号 : 4541 をご覧ください。



特長

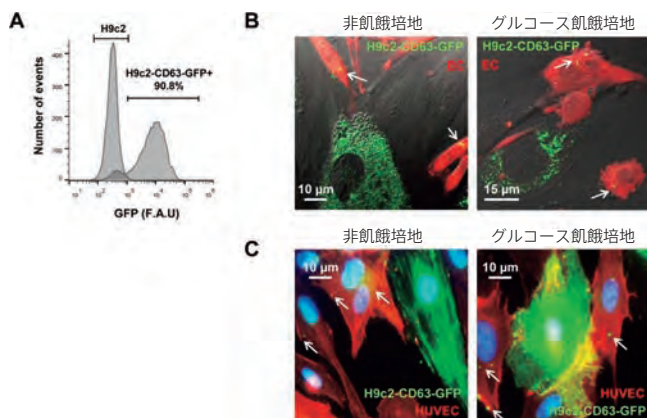
- エクソソームの局在や動態、機能解析に最適です。
 - 初代培養細胞、がん細胞、幹細胞などのエクソソームを標識できます。
 - トランスフェクションやウイルスへのパッケージングにも使用可能です。初代培養細胞、がん細胞、幹細胞などを用いて、GFP/RFP 融合トレーサータンパク質を安定的に発現する細胞株を構築できます。
 - レンチウイルス粒子にパッケージング済みの製品もあります。
- ※製品にトランスフェクション試薬は付属しません。

使用例



Webに
動画あり

フナコシWebに、CD63-GFP発現H9C2細胞(緑色)からDsRed発現内皮細胞(赤色)へエクソソームが輸送される動画があります。



製品ラインナップ

- プロモーター : CMV (Cytomegalovirus)

■Lentivector フォーマット

[メーカー : SBI]

融合タグ	蛍光	商品コード	包装	価格(¥)
CD9	GFP	CYTO122-PA-1	10 µg	112,000
	RFP	CYTO123-PA-1	10 µg	112,000
CD63	GFP	CYTO120-PA-1	10 µg	112,000
	RFP	CYTO120R-PA-1	10 µg	112,000
CD81	GFP	CYTO124-PA-1	10 µg	112,000
	RFP	CYTO125-PA-1	10 µg	112,000

■レンチウイルス粒子フォーマット*

保存 : -80°C カルタヘナ

[メーカー : SBI]

融合タグ	蛍光	商品コード	包装	価格(¥)
CD9	GFP	CYTO122-VA-1	2 vials	129,000
	RFP	CYTO123-VA-1	2 vials	129,000
CD63	GFP	CYTO120-VA-1	2 vials	129,000
	RFP	CYTO120R-VA-1	2 vials	131,000
CD81	GFP	CYTO124-VA-1	2 vials	129,000
	RFP	CYTO125-VA-1	2 vials	129,000

心筋細胞 (CM) から内皮細胞 (EC) へのエクソソームの輸送

A : pCT-CD63-GFP を導入した H9C2 細胞 (マウス心筋由来) の FACS 解析
90% が GFP 陽性細胞であることが示された。

B : グルコース飢餓/非飢餓培地で CD63-GFP 発現の H9C2-細胞 (緑色) を 24 時間培養後、ACTB-DsRed 発現のマウス内皮細胞 (EC ; 赤色) マウスとの共培養を行い、経時的に共焦点顕微鏡で観察した。白い矢印は心筋細胞内の CD63-GFP 構造を示す。
⇒ H9C2 細胞から内皮細胞へのエクソソーム輸送が観察できる。(フナコシ Web の動画参照)

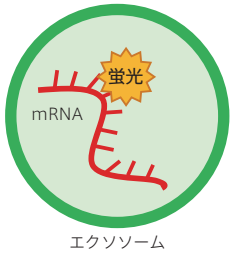
C : CD63-GFP 発現 H9C2 細胞および HUVEC との共培養における免疫染色像
緑色 : GFP, 赤色 : CD31

ご購入時のご注意

※印の製品はウイルスベクター関連製品のため、購入時にご使用者確認書が必要です。ご注文の際は、Web ページ番号 : 67810 に掲載の「ウイルスベクター関連製品ご使用者確認書」に必要事項をご記入の上、販売店担当者にお渡し下さい。

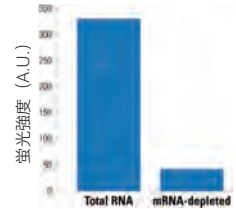
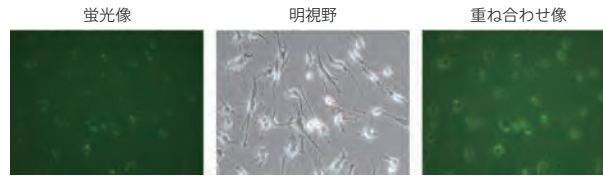
なお、製品をご使用の際には「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律 (カルタヘナ法)」および所属組織における安全管理規定に従い、しかるべき施設で実験を行って下さい。詳細は文部科学省ライフサイエンス課のウェブサイトをご覧ください (<https://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html>)。

エクソソームを蛍光標識するキット ExoGlow EV Labeling Kit



①エクソソーム内の mRNA を蛍光標識するキット ExoGlow-RNA EV Labeling Kit

- 細胞外小胞 (EV) 内の mRNA を特異的に標識できる RNA プローブを使用します。
- キット内容 : RNA probe, Incubation buffer

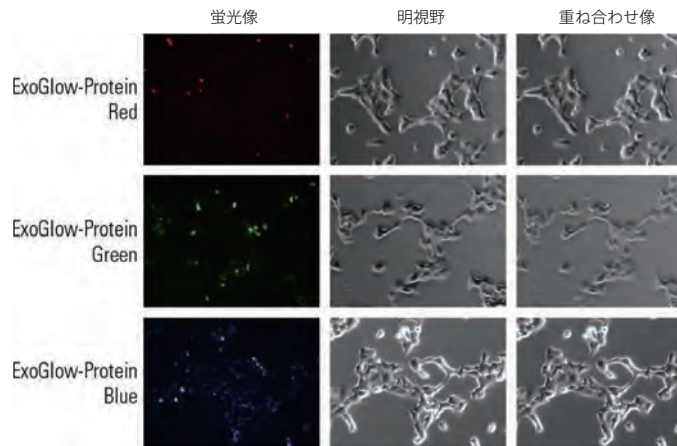


左図 : ExoGlow-RNA で標識した HEK293T 細胞由来の EV を HEK293T 細胞に添加し, EV の取り込みを観察した。
右図 : HEK293T 細胞から total RNA を抽出し, ExoGlow-RNA で標識した。次に, polyT 磁気ビーズを使用して, total RNA から mRNA を除去した。mRNA に対して特異性の高い標識ができたことが分かる。

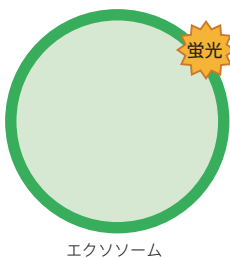


②エクソソーム内のタンパク質を蛍光標識するキット ExoGlow-Protein EV Labeling Kit

- 細胞外小胞 (EV) に取り込まれると, 蛍光を生じる標識色素を使用します。
- キット内容 : Labeling dye, ExoQuick-TC

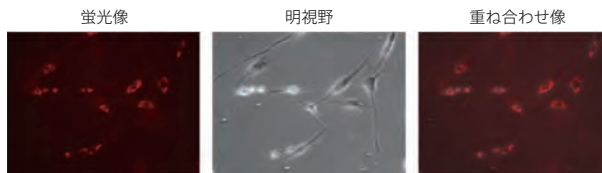


ExoGlow-Protein で標識した HEK293T 細胞由来の EV を HEK293T 細胞に添加し, EV の取り込みを観察した。



③エクソソーム膜を蛍光標識するキット ExoGlow-Membrane EV Labeling Kit

- インタクトな細胞外小胞 (EV) 膜を特異的に標識できる標識色素を使用します。
- キット内容 : Labeling dye, Reaction buffer



ExoGlow-Membrane で標識した HEK293T 細胞由来の EV を HEK293T 細胞に添加し, EV の取り込みを観察した。

[メーカー : SBI]

蛍光標識する対象	品名	励起 (nm)	蛍光 (nm)	推奨するレーザー波長 (nm)	商品コード	包装	価格 (¥)
① mRNA	ExoGlow-RNA EV Labeling Kit	485	537	488	EXOGR800A-1	1 kit	99,000
② タンパク質	ExoGlow-Protein EV Labeling Kit (Red)	573	588	561	EXOGP100A-1	1 kit	60,000
	ExoGlow-Protein EV Labeling Kit (Green)	511	525	488	EXOGP300A-1	1 kit	60,000
	ExoGlow-Protein EV Labeling Kit (Blue)	403	454	405	EXOGP400A-1	1 kit	60,000
③ 膜	ExoGlow-Membrane EV Labeling Kit	465	635	488	EXOGM600A-1	1 kit	60,000

※いずれの製品も, あらかじめ試料からエクソソームを抽出する必要があります。エクソソームの抽出には ExoQuick (p.9~) がオススメです。

細胞外小胞の粒子径などの より正確な測定に

ExoGlow-NTA Fluorescent Labeling Kit

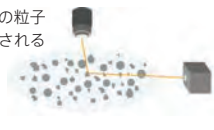
エクソソームなどの細胞外小胞 (EV) を特異的に蛍光標識する製品です。本製品で蛍光標識した EV を、蛍光 NTA で解析することにより、EV の粒子径や粒度分布を、より正確に測定できます。

ここがすごい

本製品で EV を蛍光標識する利点

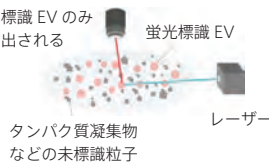
蛍光を用いない NTA

すべての粒子
が検出される



蛍光 NTA

蛍光標識 EV のみ
が検出される



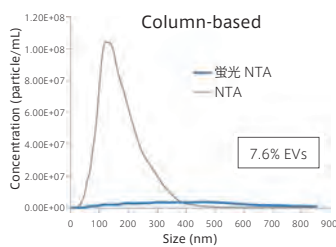
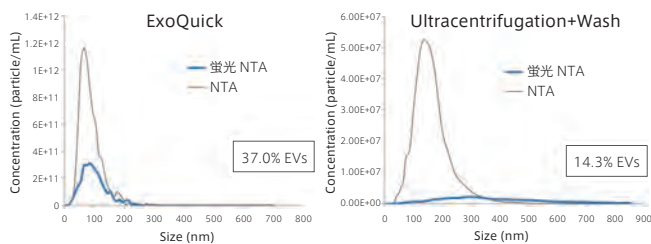
蛍光を用いない従来法 NTA (ナノ粒子トラッキング解析法) では、膜フラグメント、タンパク質凝集物、そのほかのバックグラウンドとなる粒子によるデータも取得してしまいます。

インタクトな EV 膜に特異的に結合する 'ExoGlow-NTA Dye' (本製品に付属) で標識した EV を蛍光 NTA で測定すれば、非特異的な結果が排除でき、シグナル/ノイズ比の高いデータを得ることができます。

特長

- Labeling dye と Reaction buffer を混合し、EV 試料を加えてインキュベートするだけで標識できます。
- NanoSight (Malvern 社) 用のキットと ZetaView (MicrotracBEL 社) 用のキットがあります。

EV の粒度分布の比較 (NanoSight を使用)



蛍光を用いない NTA の場合は EV 濃度を大きく見積もりすぎてしまう可能性があります



品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ExoGlow-NTA Fluorescent Labeling Kit			
SBI EXONTA200A-1 for Malvern NanoSight		1 kit /	74,000
SBI EXONTA110A-1 for Particle Metrix ZetaView		1 kit /	74,000
使用回数: 10 reactions, キット内容: Reaction buffer, Labeling dye, Standard, Size exclusion column. (#EXONTA200A-1 のみ)			

エクソソームにも使用できる 無毒性で高輝度の蛍光細胞膜プローブ MemGlow

高い特異性、低バックグラウンド、簡便性を併せ持った蛍光細胞膜プローブです。糸状仮足やナノチューブといった微細構造を含む細胞膜のイメージング、およびエクソソームなどの細胞外小胞のイメージングにも有用です。

特長

- 細胞膜に結合する双極性アンカーと、シアニンまたは BODIPY 色素で構成されています。
- 生細胞、固定細胞、ex vivo、固定組織で使用できます。
- 細胞毒性がないため、生細胞の長期イメージングと再イメージングが可能です。
- MemGlow 590 は超解像度顕微鏡 (STORM) での観察にも使用できます。

使用例



in vivo におけるエクソソームトラッキング実験のワークフロー

MemGlow 560 および 640 を用いて、ゼブラフィッシュにおける細胞外小胞 (EV) の動態を可視化した。循環する EV をエンドサイトする 2 つの主要な細胞のタイプを特定し、その取り込みのメカニズムが明らかになった。

Hyenne V., et al., *dev. Cell*, 48 (4), 554~572 (2019). [PMID: 30745140]

[メーカー: CYO]

品名	測定波長 (励起/蛍光)	商品コード	包装	価格 (¥)
MemGlow 488	499 nm / 507 nm	MG01-02	2 nmol	55,000
		MG01-10	10 nmol	102,000
MemGlow 560	555 nm / 570 nm	MG02-02	2 nmol	55,000
		MG02-10	10 nmol	102,000
MemGlow 590	595 nm / 613 nm	MG03-02	2 nmol	55,000
		MG03-10	10 nmol	103,000
MemGlow 640	650 nm / 673 nm	MG04-02	2 nmol	55,000
		MG04-10	10 nmol	102,000
MemGlow 700	689 nm / 713 nm	MG05-02	2 nmol	55,000
		MG05-10	10 nmol	103,000

エクソソームに siRNA / miRNA を導入する試薬 Exo-Fect siRNA / miRNA Transfection Kit

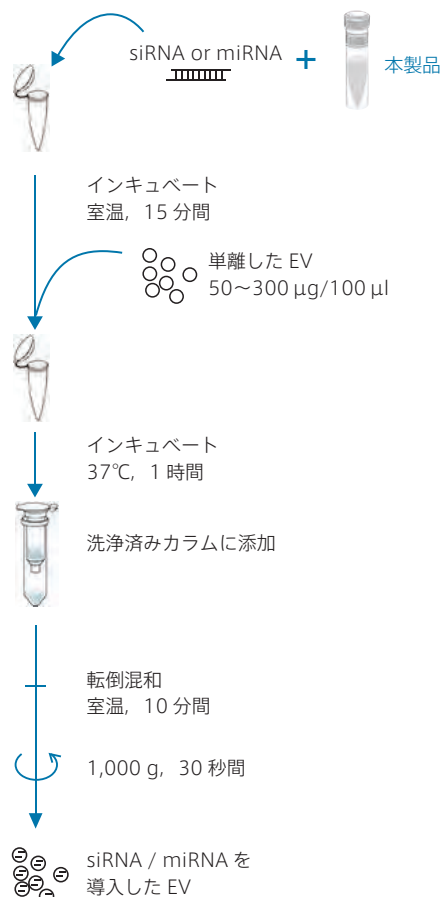
単離したエクソソームなどの細胞外小胞 (EV) に siRNA または miRNA を高効率で導入する, CPP (Cell-Penetrating Peptide) ベースの試薬です。エレクトロポーション装置や処理時間の最適化は不要です。

特長

- 約 1.5 時間で siRNA または miRNA を EV へ導入できます。
- siRNA または miRNA の EV を介した標的細胞への導入効率は 95% です。
- siRNA を導入した EV で処理した細胞における、標的遺伝子のノックダウン効率は >80% です。
- 細胞毒性が低く抑えられています。
- 操作後半の洗浄ステップにより、導入されなかった small RNA, 過剰な試薬は除去されます。

操作方法概略

※詳細は製品データシートでご確認ください。

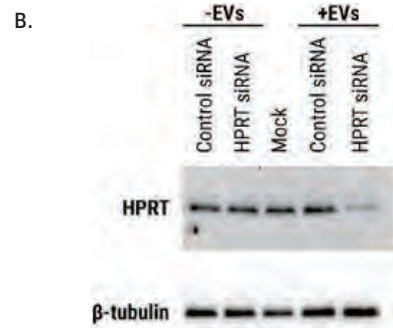
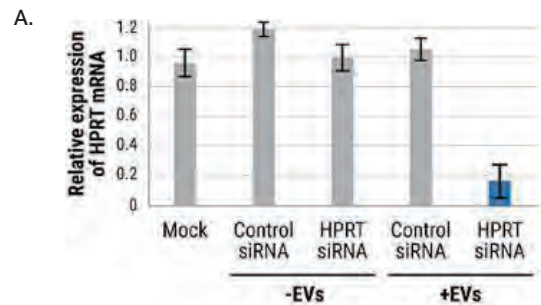


キット内容

- Transfection reagent
- Transfection buffer
- Cy3 transfection control
- Clean-up column
- Collection tube
- Column buffer

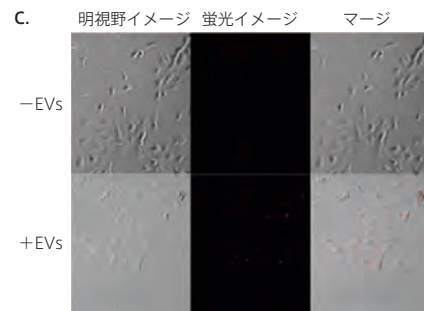
品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Exo-Fect siRNA/miRNA Transfection Kit (20 reactions)			
SBI	EXFT200A-1		1 kit / 75,000

使用例

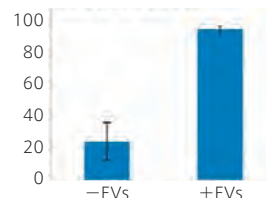


遺伝子ノックダウン試験

本製品を用いて HPRT 遺伝子を標的とする siRNA を EV に導入した。この EV を細胞に添加し、qPCR により mRNA 発現 (A) を、ウェスタンブロッティングによりタンパク質発現 (B) を解析したところ、HPRT の発現がノックダウンされていた。



D. 蛍光シグナルを放つ細胞の割合 (%)



E. 各細胞株への EV の導入効率

細胞株	EV の導入効率
HeLa	~95%
HEK293	~90-95%
HUVEC	~80-90%

EV を介した HUVEC への siRNA の導入例

C: Cy3 標識コントロール siRNA を EV にロードした後、EV を介して HUVEC に導入し、36~48 時間後に細胞を観察した。上段に EV 処理なし、下段に EV 処理有り HUVEC にトランスフェクションを行った結果を示した。EV 処理により、Cy3 標識 siRNA がほとんどの細胞に導入されたことがわかる。

D: EV 未処理細胞で見られるわずかな蛍光は、洗浄工程の後に残留した微量の蛍光標識 siRNA によるものである。

E: 図 C に示した EV のトランスフェクション効率を、細胞種ごとに定量した結果を示した。

目的タンパク質を内包したエクソソームを産生するシステム XPack Protein Packaging System

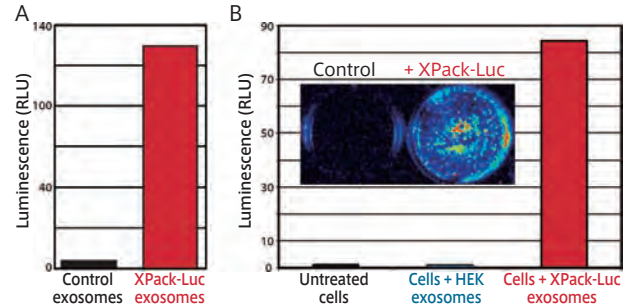
エクソソームに目的タンパク質をパッケージングできます。エクソソームのトラッキングやラベリングが可能です。

操作 目的タンパク質を取り込んだエクソソームを作製する

目的

- ・ 同定したエクソソーム中のタンパク質の機能解析
- ・ DDSのためのタンパク質の導入

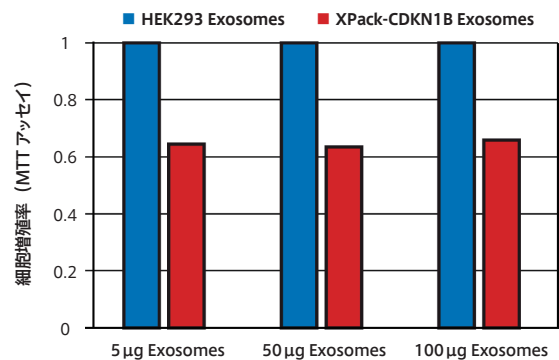
使用例



XPack-Luciferase をエクソソームに取り込ませた例

使用した製品：Lentivector (#XPAK532PA-1)
 エクソソームに取り込ませたもの：XPack-Luciferase
 エクソソームを産生させた細胞：HEK293 細胞

A：回収したエクソソームにおけるルシフェラーゼ活性
 B：A のエクソソームを取り込ませた HEK293 細胞におけるルシフェラーゼ活性



細胞周期阻害因子 CDKN1B を内包したエクソソームを HEK293 細胞に取り込ませた例

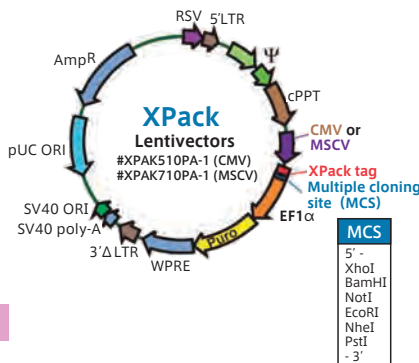
使用した製品：Lentivector (#XPAK510PA-1)
 エクソソームに取り込ませたもの：XPack-CDKN1B
 エクソソームを産生させた細胞：HEK293 細胞

XPack-CDKN1B を内包したエクソソームを HEK293 細胞に添加した。エクソソームを取り込んだ細胞において、細胞増殖率が低下した。

製品フォーマット (いずれかをお選び下さい)

① Lentivector

トランスフェクション効率が低い細胞ではレンチウイルス粒子でのトランスダクションがお勧め!



② レンチウイルス粒子

③ エクソソームを安定に産生する細胞株

[メーカー：SBI]

エクソソームに取り込ませるもの	① Lentivector			② レンチウイルス粒子*			③ エクソソームを安定に産生する HEK293 細胞株		
	商品コード	包装/価格 (¥)		商品コード	包装/価格 (¥)		商品コード	包装/価格 (¥)	
目的タンパク質	CMV	XPAK510PA-1	10 µg / 132,000	-	-	-	-	-	
	MSCV	XPAK710PA-1	10 µg / 132,000	-	-	-	-	-	
GFP	CMV	XPAK530PA-1	10 µg / 137,000	CMV	XPAK530VA-1	1 vial / 137,000	CMV	XPAK530CL-1	1 vial / 237,000
	MSCV	XPAK730PA-1	10 µg / 137,000	MSCV	XPAK730VA-1	1 vial / 137,000	-	-	
RFP	CMV	XPAK531PA-1	10 µg / 137,000	-	-	-	-	-	
Luciferase	CMV	XPAK532PA-1	10 µg / 137,000	CMV	XPAK532VA-1	1 vial / 137,000	CMV	XPAK532CL-1	1 vial / 237,000
	MSCV	XPAK732PA-1	10 µg / 137,000	MSCV	XPAK732VA-1	1 vial / 137,000	-	-	

CMV プロモーター：ほとんどの細胞株用

MSCV プロモーター：造血細胞/幹細胞用

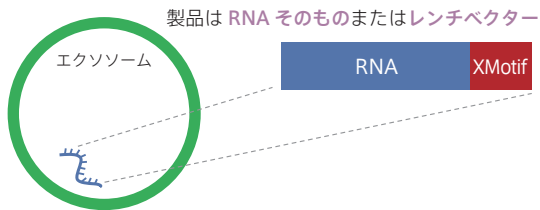
ウイルスベクター関連製品ご購入時のご注意

* ウイルスベクター関連製品のため、購入時にご使用者確認書が必要です。ご注文の際は、Web ページ番号：63244 に掲載の「ウイルスベクター関連製品ご使用者確認書」に必要事項をご記入の上、販売店担当者にお渡し下さい。

なお、製品をご使用の際には「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律 (カルタヘナ法)」および所属組織における安全管理規定に従い、しかるべき施設で実験を行って下さい。詳細は文部科学省ライフサイエンス課のウェブサイトをご覧ください (<https://www.lifescience.mext.go.jp/bioethics/anzen.html>)。

エクソソームに miRNA を導入するシステム XMIR Exosome miRNA Packaging System

操作 エクソソームに miRNA を取り込ませる



- XMotif はエクソソームに取り込まれる small RNA に特異的な配列です。
- XMotif と連結した miRNA は、エクソソーム内に取り込まれます。

目的

- ・ 同定したエクソソーム miRNA の機能を解析
- ・ DDS のための核酸分子を導入
- ・ エクソソーム受容細胞に RNA 干渉 (RNAi) を起こす

製品フォーマット (いずれかをお選び下さい)

製品のシリーズ名	製品フォーマット	取り込ませる RNA
XMIR	RNA oligo	miRNA
AXMIR	RNA oligo	アンチセンス miRNA
XMIRXpress	Lentivector	miRNA

操作方法概略



XMIR の製品ラインナップ



RNA oligo

保存: **-80°C** [メーカー: SBI]

RNA の種類	商品コード	包装	価格 (¥)
miRNA-1-3p	XMIR-1	10 tests	69,000
miRNA-10a-5p	XMIR-10a	10 tests	69,000
miRNA-21-5p	XMIR-21	10 tests	69,000
miRNA-29a-3p	XMIR-29a	10 tests	69,000
miRNA-31-5p	XMIR-31	10 tests	69,000
miRNA-34a-5p	XMIR-34a	10 tests	69,000
miRNA-122-5p	XMIR-122	10 tests	69,000
miRNA-124a-3p	XMIR-124a	10 tests	69,000
miRNA-125a-5p	XMIR-125a	10 tests	69,000
miRNA-125b-5p	XMIR-125b	10 tests	69,000
miRNA-127-3p	XMIR-127	10 tests	69,000
miRNA-145-5p	XMIR-145	10 tests	69,000
miRNA-146a-5p	XMIR-146a	10 tests	69,000
miRNA-150-5p	XMIR-150	10 tests	69,000
miRNA-155-5p	XMIR-155	10 tests	69,000
miRNA-200c-3p	XMIR-200c	10 tests	69,000
miRNA-203a-3p	XMIR-203	10 tests	69,000
miRNA-205-5p	XMIR-205	10 tests	69,000
miRNA-219a-5p	XMIR-219	10 tests	69,000
miRNA-221-3p	XMIR-221	10 tests	69,000
miRNA-222-3p	XMIR-222	10 tests	69,000
miRNA-223-3p	XMIR-223	10 tests	69,000
miRNA-224-5p	XMIR-224	10 tests	69,000
miRNA-486-5p	XMIR-486	10 tests	69,000
miRNA-let7a-5p	XMIR-let7a	10 tests	69,000
Texas-Red	XMIR-POS	10 tests	69,000

ポジティブコントロールとしてお使いいただけます

AXMIR の製品ラインナップ



RNA oligo

保存: **-80°C** [メーカー: SBI]

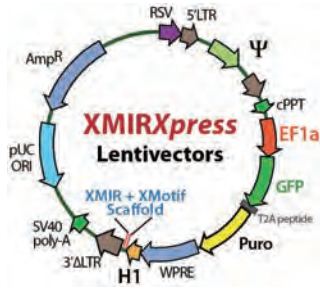
RNA の種類	商品コード	包装	価格 (¥)
anti-miRNA-1-3p	AXMIR-1	10 tests	69,000
anti-miRNA-21-5p	AXMIR-21	10 tests	69,000
anti-miRNA-29a-3p	AXMIR-29a	10 tests	69,000
anti-miRNA-31-5p	AXMIR-31	10 tests	69,000
anti-miRNA-34a-5p	AXMIR-34a	10 tests	69,000
anti-miRNA-122-5p	AXMIR-122	10 tests	69,000
anti-miRNA-124a-3p	AXMIR-124a	10 tests	69,000
anti-miRNA-125a-5p	AXMIR-125a	10 tests	69,000
anti-miRNA-125b-5p	AXMIR-125b	10 tests	69,000
anti-miRNA-145-5p	AXMIR-145	10 tests	69,000
anti-miRNA-146a-5p	AXMIR-146a	10 tests	69,000
anti-miRNA-150-5p	AXMIR-150	10 tests	69,000
anti-miRNA-155-5p	AXMIR-155	10 tests	69,000
anti-miRNA-200c-3p	AXMIR-200c	10 tests	69,000
anti-miRNA-203a-3p	AXMIR-203	10 tests	69,000
anti-miRNA-205-5p	AXMIR-205	10 tests	69,000
anti-miRNA-219a-5p	AXMIR-219	10 tests	69,000
anti-miRNA-221-3p	AXMIR-221	10 tests	69,000
anti-miRNA-222-3p	AXMIR-222	10 tests	69,000
anti-miRNA-223-3p	AXMIR-223	10 tests	69,000
anti-miRNA-224-5p	AXMIR-224	10 tests	69,000
anti-miRNA-let7a-5p	AXMIR-let7a	10 tests	69,000

*これらの製品は XMIRXpress に含まれません。別途、ご用意下さい。製品の詳細はフナコシ Web をご覧ください。

PureFection : Web ページ番号 4205, PEG-it : Web ページ番号 3160, pPack Packaging Mix : Web ページ番号 3267

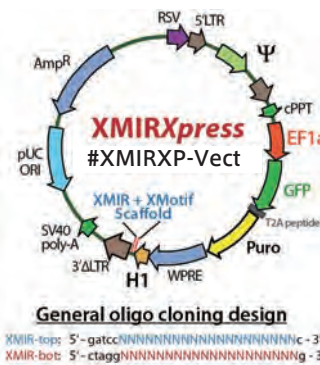
XMIRXpress の製品ラインナップ

Lentivector



[メーカー：SBI]

RNAの種類	商品コード	包装	価格(¥)
miRNA-1-3p	XMIRXP-1	10 µg	111,000
miRNA-10a-5p	XMIRXP-10a	10 µg	111,000
miRNA-21-5p	XMIRXP-21	10 µg	111,000
miRNA-29a-3p	XMIRXP-29a	10 µg	111,000
miRNA-29b-3p	XMIRXP-29b	10 µg	111,000
miRNA-31-5p	XMIRXP-31	10 µg	111,000
miRNA-34a-5p	XMIRXP-34a	10 µg	111,000
miRNA-122-5p	XMIRXP-122	10 µg	111,000
miRNA-124a-3p	XMIRXP-124a	10 µg	111,000
miRNA-125a-5p	XMIRXP-125a	10 µg	111,000
miRNA-125b-5p	XMIRXP-125b	10 µg	111,000
miRNA-127-3p	XMIRXP-127	10 µg	111,000
miRNA-145-5p	XMIRXP-145	10 µg	111,000
miRNA-146a-5p	XMIRXP-146a	10 µg	111,000
miRNA-150-5p	XMIRXP-150	10 µg	111,000
miRNA-155-5p	XMIRXP-155	10 µg	111,000
miRNA-200c-3p	XMIRXP-200c	10 µg	111,000
miRNA-203a-3p	XMIRXP-203	10 µg	111,000
miRNA-205-5p	XMIRXP-205	10 µg	111,000
miRNA-219a-5p	XMIRXP-219	10 µg	111,000
miRNA-221-3p	XMIRXP-221	10 µg	111,000
miRNA-222-3p	XMIRXP-222	10 µg	111,000
miRNA-223-3p	XMIRXP-223	10 µg	111,000
miRNA-224-5p	XMIRXP-224	10 µg	111,000
miRNA-486-5p	XMIRXP-486	10 µg	111,000
miRNA-let7a-5p	XMIRXP-let7a	10 µg	111,000

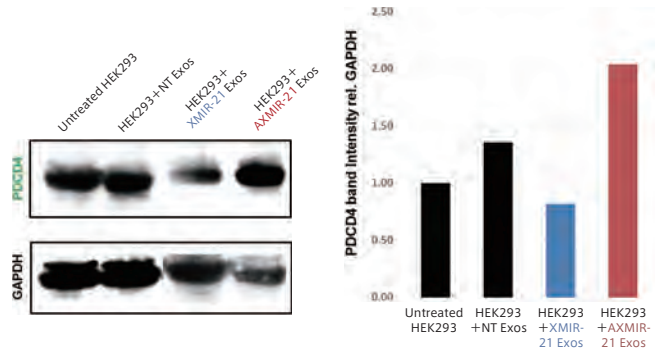


- 任意の RNA をエクソソームに取り込ませたい場合は、クローニングベクター (#XMIRXP-Vect) をご使用下さい。
- 特定の RNA をターゲティングしない、コントロール用ベクター (#XMIRXP-NT) もあります。

[メーカー：SBI]

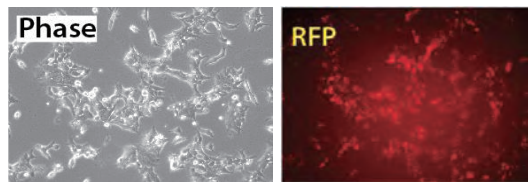
品名	商品コード	包装	価格(¥)
XMIRXpress Cloning Lentivector with XMotif	XMIRXP-Vect	10 tests	111,000
XMIRXpress Lentivector Non-targeting miRNA with XMotif	XMIRXP-NT	10 µg	111,000

使用例



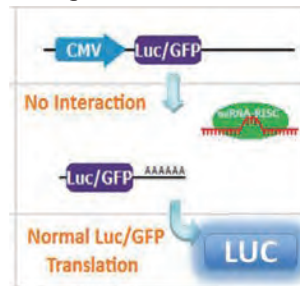
XMIR-21 による内在性タンパク質レベルのノックダウン

PDCD4: miRNA-21 の標的遺伝子
 #XMIR-21: miRNA-21-5p+XMotif の RNA オリゴ
 #AXMIR-21: anti-miRNA-21-5p+XMotif の RNA オリゴ
 #XMIR-21 または #AXMIR-21 を取り込ませたエクソソームを HEK293 細胞に追加し、内在性 PDCD4 の発現レベルをウェスタンブロットにより解析した。
 #XMIR-21 により PDCD4 のタンパク質量が減少し、#AXMIR-21 により PDCD4 のタンパク質量が増加した。

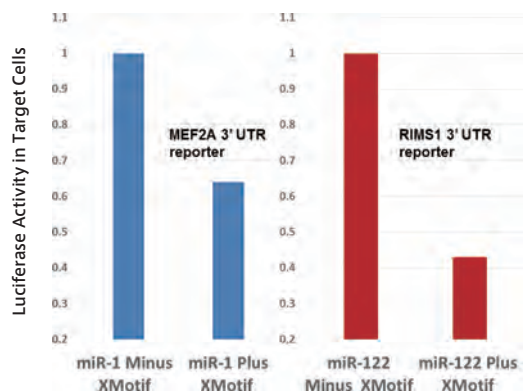
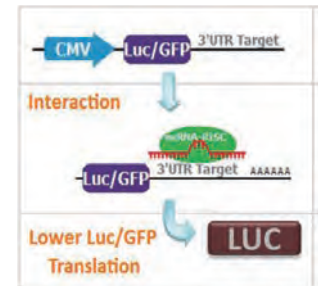


HEK293 細胞にポジティブコントロール用の RNA オリゴ #XMIR-POS (Texas-Red+XMotif) をトランスフェクションし、産生したエクソソームを回収した。このエクソソームをナイーブ型 HEK293 細胞に添加し、4 時間後に蛍光顕微鏡により観察した。

No miRNA binding = high luciferase levels.



Successful miRNA binding = lowered luciferase levels.

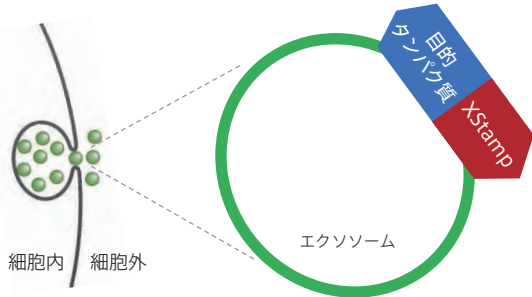


#XMIR-1: miRNA-1-3p+XMotif の RNA オリゴ
 #XMIR-122: miRNA-122-5p+XMotif の RNA オリゴ
 MEF2A: miR-1 の標的遺伝子
 RIMS1: miR-122 の標的遺伝子
 #XMIR-1 または #XMIR-122 を取り込ませたエクソソームを、ルシフェラーゼ遺伝子の下流に標的遺伝子 (MEF2A または RIMS1) の 3'UTR を組み込んだ HEK293 細胞に添加した。その後、ルシフェラーゼアッセイを行った。エクソソームの取り込みにより、ルシフェラーゼ活性が下方制御された。

目的タンパク質をエクソソーム表面に提示させるシステム XStamp Exosome Targeting System

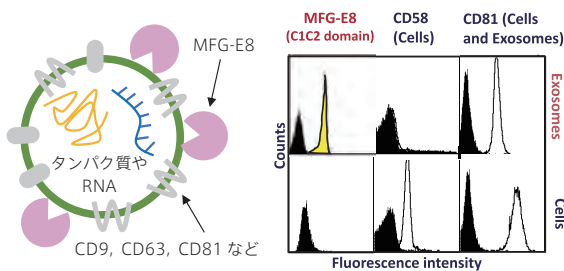
ここがすごい

XStamp

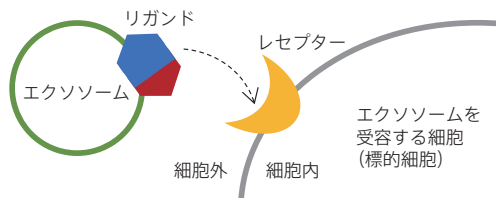


XStamp は、エクソソーム表面に局在するタンパク質 MFG-E8 の C1C2 ドメインです。目的のタンパク質 (リガンド) をエクソソーム表面に提示させます。

MFG-E8 はエクソソーム表面に局在する

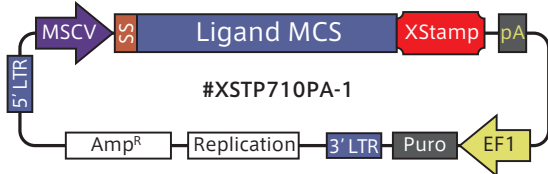


目的のタンパク質 (リガンド) によってエクソソームを効率よく標的細胞に輸送させます。



製品フォーマット (いずれかをお選び下さい)

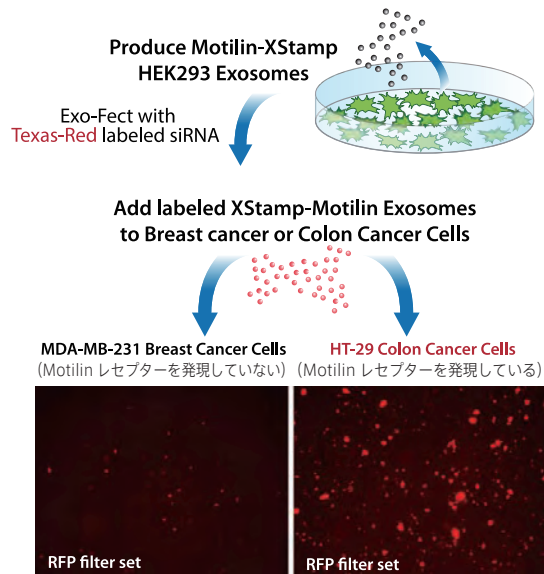
① 任意の配列を組み込める Lentivector (#XSTP710PA-1)



② 特定のリガンドを発現させるための Lentivector

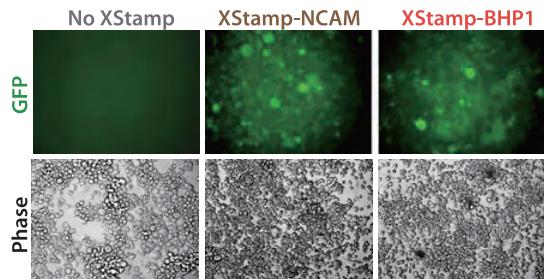
リガンドの種類	標的となる細胞	商品コード
Motilin	消化管細胞	XSTP720PA-1
NCAM	神経系細胞	XSTP721PA-1
BHP1	脳細胞	XSTP722PA-1
GE11	がん細胞	XSTP723PA-1
Her2	乳がん細胞	XSTP724PA-1
CD40L/CD154	抗原提示細胞	XSTP725PA-1
IL-2	免疫細胞	XSTP726PA-1

使用例



XStamp と Exo-Fect を組み合わせて使用した例

使用した製品: #XSTP720PA-1
 エクソソーム表面に提示させたリガンド: Motilin
 Motilin の標的: Motilin レセプターを発現している細胞 (消化管細胞)
 エクソソームを産生させた細胞: HEK293 細胞
 Motilin 提示エクソソームに、トランスフェクション試薬 Exo-Fect を用いて Texas-Red 標識 siRNA を導入した後、各細胞に添加した。細胞におけるエクソソームの取り込みを蛍光により確認した。MDA-MB-231 細胞と比べ、HT-29 細胞においてエクソソームの取り込みがより多いことが観察された。



XStamp と XPack を組み合わせて使用した例

使用した製品: #XSTP721PA-1 (提示リガンド: NCAM) および #XPAK530PA-1 (内包: GFP)
 #XSTP722PA-1 (提示リガンド: BHP1) および #XPAK530PA-1 (内包: GFP)
 エクソソームを産生させた細胞: マウス間葉系幹細胞

XStamp レンチベクターと GFP パッケージング用 XPack レンチベクターをマウス間葉系幹細胞にトランスフェクションし、リガンドを提示しかつ GFP を取り込ませたエクソソームを産生させた。このエクソソームをマウス神経芽細胞腫 Neuro 2a 細胞に添加し、エクソソームの取り込みを蛍光により確認した。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
XStamp Cloning and Expression Lentivector			
SBI	XSTP710PA-1		10 µg / 132,000
XStamp Exosome Targeting Vector			
SBI	XSTP720PA-1	Motilin	10 µg / 137,000
SBI	XSTP721PA-1	NCAM	10 µg / 137,000
SBI	XSTP722PA-1	BHP1	10 µg / 137,000
SBI	XSTP723PA-1	GE11	10 µg / 137,000
SBI	XSTP724PA-1	Her2	10 µg / 137,000
SBI	XSTP725PA-1	CD40L/CD154	10 µg / 137,000
SBI	XSTP726PA-1	IL-2	10 µg / 137,000

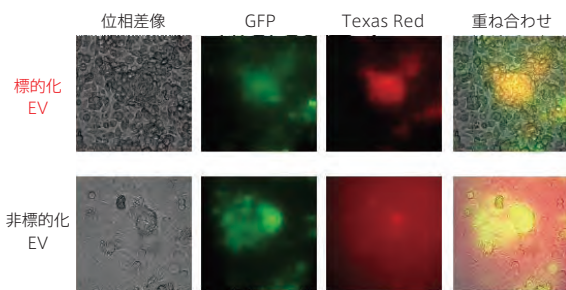
標的細胞への特異性を上げたエクソソームを作製するキット XStamp Pro Targeting Kit シリーズ

単離したエクソソームなどの細胞外小胞 (EV) の表面に、任意のタンパク質や特定の抗原に特異的な抗体をコートすることにより、発現ベクターなどを介さず直接的に、標的細胞への特異性を上げた EV を作製することができるキットです。

特長

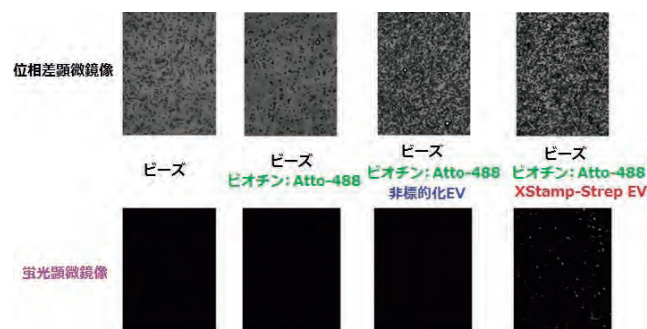
- 次世代の XStamp テクノロジー (p.32) により、標的細胞への特異性を上げた EV を迅速に作製できます。
- 発現ベクターやトランスフェクションは不要です。精製した EV を直接標識します。
- XStamp ScFv と EV を 1 時間インキュベートし、標的に対する固有の EV を分離するだけの単純なワークフローのため、操作時間を短縮できます。
- 複数の標的に対するバリエーションを簡単に作製できるため、迅速なスクリーニングに有用です。
- あらゆる EV ローディングプロトコルに対応しています。
- 使用回数：10 reactions
- キット内容：XStamp Pro purified protein*, ExoQuick-TC (p.11 参照)
*製品により異なります。

使用例



XStamp anti-HIV ScFv (#XSTP905A-1) を表面にコートした EV の効果

GFP 標識 HIV を感染させた TZMbl 細胞に対して、Texas Red 標識 siRNA を内部に含む非標的化 EV (下段)、HIV 標的化 EV (上段) をそれぞれ添加した。HIV 標的化 EV のみが有意に HIV 感染細胞へ取り込まれたことがわかる。
画像提供：Drs. Rafal Kaminski and Kamel Khalili, Temple University

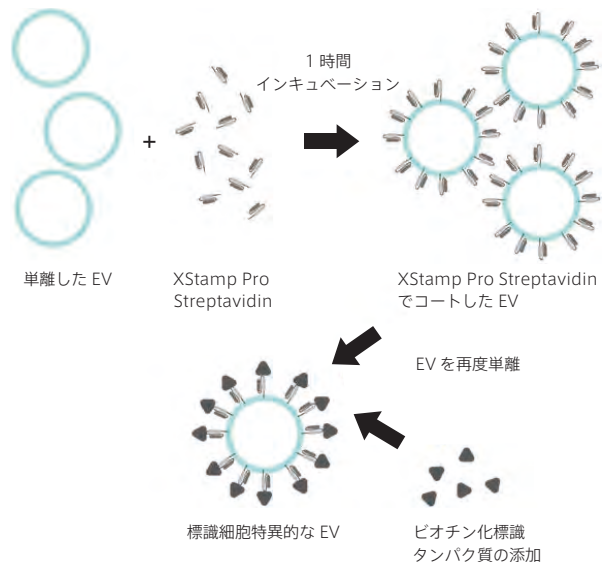


ラテックス硫化アルデヒドビーズを用いた XStamp Pro Streptavidin (#XSTP900A-1) によるビオチン標識物への結合の検証

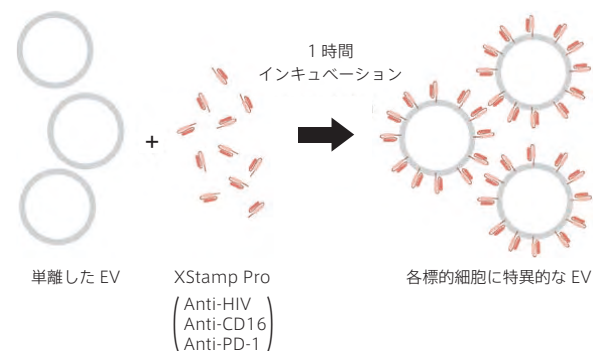
EV には結合するが、ビオチン化 Atto-488 色素には結合しないラテックス硫化アルデヒドビーズを使用し、蛍光顕微鏡で観察した。最右列の XStamp Pro Streptavidin で表面をストレプトアビジンでコートした EV のみが、ビオチン化 Atto-488 と結合し緑色蛍光を発しているのがわかる。

操作方法概略

■ XStamp Pro Streptavidin Customizable EV Targeting Kit



■ XStamp Pro Anti-HIV / Anti-CD16 / Anti-PD-1 EV Targeting Kit



[メーカー：SBI]

品名	修飾	標的細胞	商品コード	包装/価格(¥)
XStamp Pro Streptavidin Customizable EV Targeting Kit	Streptavidin	任意の標的細胞	XSTP900A-1 -80°C	1 kit / 131,000
XStamp Pro Anti-HIV EV Targeting Kit	抗 HIV 抗体	HIV 感染細胞	XSTP905A-1 -80°C	1 kit / 131,000
XStamp Pro Anti-CD16 EV Targeting Kit	抗 CD16 抗体	CD16 発現細胞	XSTP910A-1 -80°C	1 kit / 131,000
XStamp Pro Anti-PD-1 EV Targeting Kit	抗 PD-1 抗体	PD-1 発現細胞	XSTP915A-1 -80°C	1 kit / 131,000



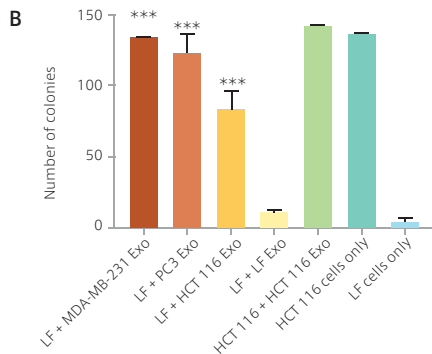
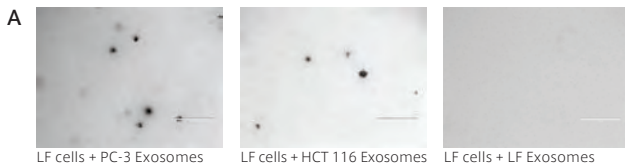
ATCC[®] Exosomes (精製エクソソーム)

スタンダードとして最適な、様々な細胞株由来の精製エクソソームです。エクソソームの組成、細胞のリプログラミング、およびバイオマーカーの研究などに有用です。

特長

- 接線流ろ過法により高純度に精製され、ナノ粒子トラッキング解析法 (NTA) による一貫した粒度分布 (50~200 nm) を検証済みです。
- エクソソームのタンパク質マーカーを確認済みです。
- ロット間のばらつきはほとんどありません。

使用例

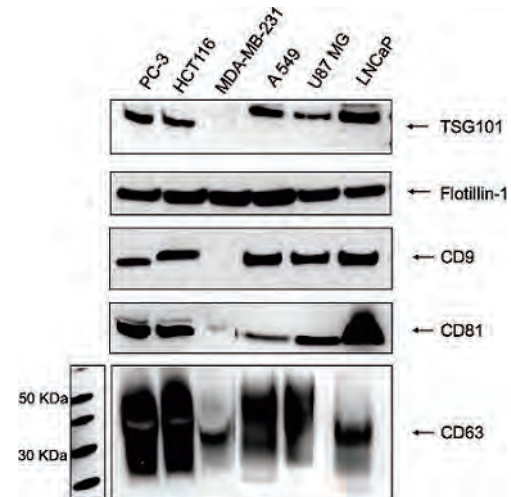


ヒト初代肺線維芽細胞の成長アッセイ

ヒト初代肺線維芽細胞 (LF, ATCC[®] No. PCS-201-013TM) を、各精製エクソソーム (タンパク質 100 µg/ml 相当) で 7 日間処理し、軟寒天コロニー形成アッセイを行った。
A: クリスタルバイオレット染色 (スケールバー: 400 µm)

B: コロニー形成数
MDA-MB-231 / PC-3: ***p<0.0006, HCT-116: ***p<0.0003,
LF: p<0.010

参考文献: Siddhartha Paul, et al., Poster presented at AACR (2019).



様々ながん細胞株から精製したエクソソームのウェスタンブロットングによる解析

精製エクソソーム (タンパク質 10 µg 相当) をウェスタンブロットにより解析した。様々ながん細胞株 (PC-3, HCT116, MDA-MB-231, A549, U87 MG, LNCap) から精製したエクソソームは、異なるマーカータンパク質を発現していた。

価格/注文方法

■ 精製エクソソーム

包装: 100~200 µL (≥10⁸ Frozen Exosomes)

[メーカー: ACC]

由来細胞	商品コード (ATCC [®] No.)	包装	価格 (¥)
A549	CCL-185-EXM TM	1 vial	152,000
HCT-116	CCL-247-EXM TM	1 vial	152,000
LNCap	CRL-1740-EXM TM	1 vial	152,000
hTERT MSC	SCRC-4000-EXM TM カルタヘナ	1 vial	152,000
PC-3	CRL-1435-EXM TM	1 vial	152,000

■ エクソソームの由来細胞株

保存温度: 液室 [メーカー: ACC]

細胞株	商品コード (ATCC [®] No.)	包装	価格 (¥)
A549	CCL-185 TM	1 ml	110,000
HCT-116	CCL-247 TM	1 ml	110,000
LNCap	CRL-1740 TM	1 ml	110,000
hTERT MSC*	SCRC-4000 TM カルタヘナ	1 ml	298,000
PC-3	CRL-1435 TM	1 ml	110,000

*アカデミアご所属の方向けの価格です。企業ご所属の方向けの価格についてはお問い合わせ下さい。

ご注文は専用の分譲依頼書またはフナコシ Web オンラインオーダーフォーム (ログインが必要です) をご利用下さい。

— ご依頼にあたっての注意事項 —



ATCC[®] 製品分譲は初回のご依頼に先立ち、MTA (Material Transfer Agreement) にご同意・ご署名いただくと共に、New Account Application (BSL1・BSL2・BSL3のいずれか) を提出し、ユーザー登録をしていただく必要がございます (2回目以降のご依頼時は、フナコシでユーザー登録の有無を確認させていただきます)。

※MTA および New Account Application 未提出の場合は分譲をご依頼いただくことはできません。

※ご依頼は New Account Application でお名前をご登録いただいた方にのみ制限されます。



ATCC[®] 製品
ご依頼方法

Web ページ番号
68657

ATCC[®] 製品
ご利用ガイド

Web ページ番号
68765

ご依頼方法についての
お問い合わせ

atcc@funakoshi.co.jp
TEL 03-5684-1645

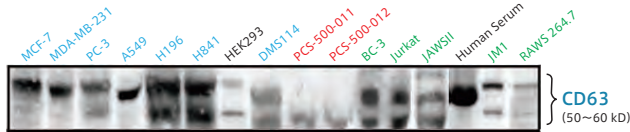
精製エクソソーム

精製後のエクソソームは、ウェスタンブロッティングによりエクソソームマーカーを確認済みです。また、NanoSight (Malvern 社) により粒度分布を確認済みです。

使用例

- エクソソームのスタンダード
- 機能分析
- バイオマーカーの評価

Western blot on purified exosomes



■ がん細胞株由来エクソソーム

包装 : 50 µg (>1×10⁶ Frozen Exosomes) [メーカー : SBI]

細胞株	商品コード	包装	価格 (¥)
MCF-7	EXOP-100A-1	50 µg	74,000
MDA-MB-231	EXOP-105A-1	50 µg	74,000
PC-3	EXOP-115A-1	50 µg	74,000
A549	EXOP-120A-1	50 µg	74,000
H841	EXOP-125A-1	50 µg	74,000
H196	EXOP-130A-1	50 µg	74,000
DMS114	EXOP-135A-1	50 µg	74,000

■ 間葉系幹細胞株由来エクソソーム

包装 : 50 µg (>1×10⁶ Frozen Exosomes) [メーカー : SBI]

細胞株	商品コード	包装	価格 (¥)
PCS-500-011	EXOP-140A-1	50 µg	95,000
PCS-500-012	EXOP-145A-1	50 µg	95,000

■ 免疫関連細胞株由来エクソソーム

包装 : 50 µg (>1×10⁶ Frozen Exosomes) [メーカー : SBI]

細胞株	商品コード	包装	価格 (¥)
BC-3	EXOP-150A-1	50 µg	95,000
Jurkat Clone E6-1	EXOP-155A-1	50 µg	95,000
JM1	EXOP-160A-1	50 µg	95,000
RAW264.7	EXOP-165A-1	50 µg	95,000
JAWS II	EXOP-200A-1	50 µg	95,000

■ 汎用的な細胞株由来エクソソーム

包装 : 50 µg (>1×10⁶ Frozen Exosomes) [メーカー : SBI]

細胞株	商品コード	包装	価格 (¥)
HEK293	EXOP-110A-1	50 µg	74,000

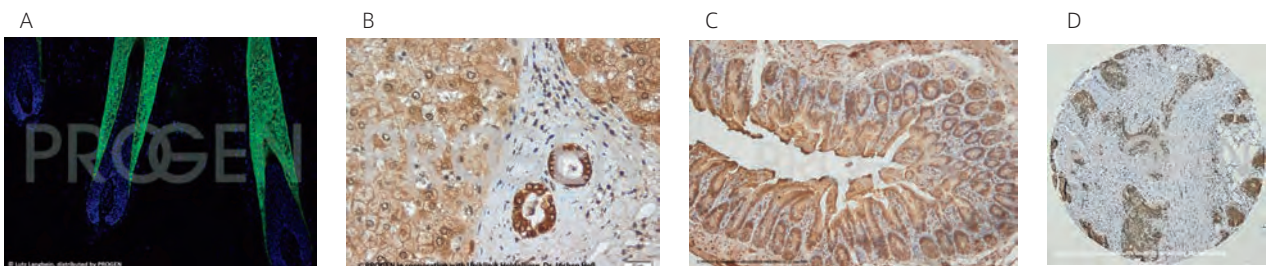
■ 正常ヒト生体試料 (プール) 由来エクソソーム

[メーカー : SBI]

試料	商品コード	包装	価格 (¥)
血清	EXOP-500A-1	25 µg	66,000
唾液	EXOP-510A-1	25 µg	66,000
尿	EXOP-520A-1	25 µg	76,000
脳脊髄液	EXOP-530A-1	25 µg	96,000

こちらもオススメ

抗ケラチン抗体



A : 抗ケラチン K5 抗体 (#GP-CK5) を使用したヒトの頭皮組織の免疫染色画像
 B : 抗ケラチン K8 抗体 (#61038) を使用したヒト肝臓組織の免疫組織染色画像
 C : 抗ケラチン K8 / K18 抗体 (#GP11) を使用したマウス結腸組織の免疫組織染色画像
 D : 抗ケラチン K19 抗体 (#61029) を使用した頭頸部扁平上皮がん組織の免疫組織染色画像

[メーカー : POG]

因子名	免疫動物 (クローン名)	交差性	適用	商品コード	包装	価格 (¥)
K5	Guinea Pig-Poly	Human, Mouse, Bovine	IHC, WB	GP-CK5	100 µl	61,000
K8	Mouse-Mono (Ks8.7)	Human, Hamster	IF, IHC, WB	61038	50 µg	47,000
K8 / K18	Guinea Pig-Poly	Human, Mouse, Rat, Bovine, Chicken, Syrian hamster	IHC, WB	GP11	100 µl	80,000
K19	Mouse-Mono (Ks19.2 (Z105.6))	Human, Rat, Bovine, Rabbit	ELISA, IF, IHC, WB	61029	50 µg	47,000

※略号 : Mono (Monoclonal), Poly (Polyclonal), IC (Immunocytochemistry), IF (Immunofluorescence), IHC (Immunohistochemistry), WB (Western Blotting)
 その他の抗ケラチン抗体についてはフナコシ Web をご覧下さい。

低分子量 G タンパク質と微小胞 (MV)* を介した発がん

低分子量 G タンパク質はグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) の制御により、GDP 結合状態 (非活性) と GTP 結合状態 (活性) を行き来することで、多様な細胞プロセスの分子スイッチとして機能します¹。低分子量 G タンパク質の異常な活性は、がんなどの疾患に大きく関与することが広く認識されています。²

また、活性化状態の低分子量 G タンパク質が、細胞外小胞 (EV) の量と分泌を調整し、がんの進行に影響を与える一つの要因となっている可能性が以下の研究によって示唆されており、低分子量 G タンパク質研究の新たな展望を示しています。

- Cdc42 (Rho ファミリータンパク質の一つ) と EGFR が、MDA-MB-231 乳がん細胞の MV 放出を調節する³。
- ARF6 と Exportin-5 は、GEF 依存的に EV 輸送を制御する⁴。
- RalA および RalB は、腫瘍の体積を制御し、組織特異的な転移性ニッチ形成のための EV をパッケージする⁵。

*直径 100~1000 nm の細胞膜から分離する EV の一種。

参考文献

1. Nestler, E. J. & Duman, R. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects (6th edition), siegel G.J., Agranoff B.W., Albers R.W., et al., editors., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999).
2. Colicelli J., *Sci. STKE*, 2004 (250): RE13 (2004).
3. Wang, J. et al., *J. Extracell.*, **10** (31) e12051 (2021).
4. Clancy, J. W., Zhang, Y., Sheehan, C. & D' Souza-Schorey, C., *Nat. Cell Biol.* **21** (7), 856~866 (2019).
5. Ghoroghi, S. et al., *eLife*, **10**: e61539 (2021).

その他

36

reagent@funakoshi.co.jp

TEL 03-5684-1775

FAX 03-5684-1620

掲載品はすべて研究用です

Web ページ番号 **8360** Arf **6289** Cdc42/Rac1/RhoA

低分子量 G タンパク質研究に

Bead pull-down Activation Assay

免疫沈降 (プルダウンアッセイ) で活性型低分子量 G タンパク質を収集し、ウェスタンブロットを用いて定量するキットです。

[メーカー: CYO]

対象因子	商品コード	包装	価格 (¥)
プルダウンアッセイキット (50 assays)			
Cdc42	BK034	1 kit	194,000
Rac1	BK035	1 kit	194,000
Ras	BK008	1 kit	194,000
RhoA	BK036	1 kit	194,000
RalA	BK040	1 kit	194,000
スターターキット (20 assays)			
Arf1	BK032-S	1 kit	111,000
Arf6	BK033-S	1 kit	111,000
Cdc42	BK034-S	1 kit	100,000
Rac1	BK035-S	1 kit	100,000
Ras	BK008-S	1 kit	97,000
RhoA	BK036-S	1 kit	97,000
コンボキット (3 キットが 1 つになったセット。各キット 10 assays)			
RhoA/Rac1/Cdc42	BK030	1 kit	236,000

[メーカー: CYO]

エフェクター分子	エフェクタードメイン	対象因子	商品コード	包装	価格 (¥)
アフィニティービーズ					
GGA3	GGA-PBD	Arf1 + Arf6	GGA07-A	500 µg	120,000
PAK	PAK-PBD	Rac + Cdc42	PAK02-A	500 µg	117,000
Rhotekin	Rhotekin-RND	RhoA/B/C	RT02-A	2×2 mg	139,000

Web ページ番号 **3251**

低分子量 G タンパク質研究に

G-LISA Activation Assay Kit

細胞内の活性型低分子量 G タンパク質を、従来のプルダウン法よりも少ない試料量でより簡単に、短時間で定量できる 96 ウェルフォーマットのキットです。

[メーカー: CYO]

対象因子	測定方法	商品コード	包装	価格 (¥)
Arf1	比色	BK132	1 kit	239,000
Arf6	比色	BK133	1 kit	239,000
Cdc42	比色	BK127	1 kit	239,000
Rac1	化学発光	BK126	1 kit	239,000
	比色	BK128	1 kit	239,000
RalA	比色	BK129	1 kit	239,000
RhoA	化学発光	BK121	1 kit	239,000
	比色	BK124	1 kit	239,000
Total RhoA	比色	BK150	1 kit	127,000
RhoA/Rac1/Cdc42*	比色	BK135	3 kits	380,000
Rac1,2,3	比色	BK125	1 kit	239,000
Ras	比色	BK131	1 kit	239,000

*RhoA, Rac1, Cdc42 のそれぞれのキットがセットになった製品です。

エクソソームとリキッドバイオプシー

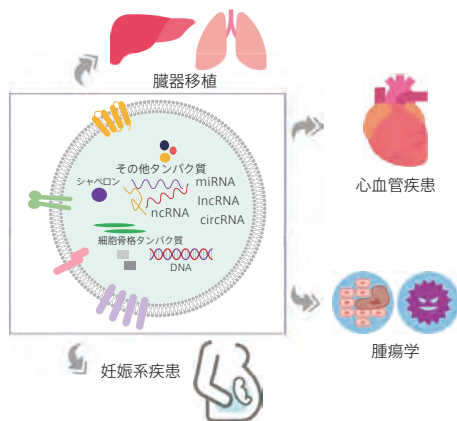
MEMO

リキッドバイオプシーとは

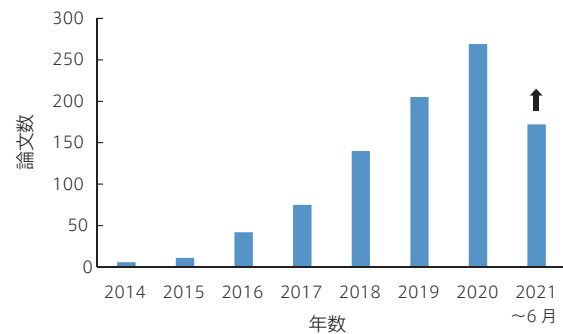
血漿や血清、尿などの体液の試料を用いて疾病の診断を行う方法です。リキッドバイオプシーは採血や生体液の採取で診断が行えるため、患者にも診断する側にも負担が少ない方法として注目されています。リキッドバイオプシーのバイオマーカーとしてエクソソーム、cfDNA (cell free DNA)、循環腫瘍細胞 (circulating tumor cells)、循環RNA (miRNA, lncRNA, mRNA)、ペプチドなどがあります。

リキッドバイオプシーにおけるエクソソーム

血液や尿、唾液など多くの体液に存在しているエクソソームには、核酸 (DNA, mRNA, miRNA, lncRNA, circRNA など)、タンパク質、脂質など、由来細胞を特徴づける様々な分子が含まれており、がん、妊娠障害、心血管疾患、免疫反応など、生理的・病理的プロセスにおいて重要な役割を果たしています。そのため、エクソソームは臨床応用に期待が寄せられ、近年はリキッドバイオプシーにおけるバイオマーカーとして注目され始めています。



エクソソームは様々な疾患にかかわりがある



エクソソームまたは EV (Extracellular Vesicle) とリキッドバイオプシーに関する論文 (2021年6月 PubMed 調べ)

エクソソームがリキッドバイオプシーのバイオマーカーとして優れている点はいくつか挙げられます。

- ・ほとんどの体液中に存在し、高い生物学的安定性を持つため、試料としての保存・輸送のコストがかからない。
- ・エクソソームは生きた細胞から分泌され、親細胞からの生物学的情報を多く含む。
- ・エクソソームは CD63, ALIX, TS101, HSP70 などのマーカータンパク質を発現しており、これによりエクソソームと他の細胞外小胞と区別できる。また、特徴のある形状から電子顕微鏡でも識別することができる。
- ・由来細胞や標的細胞からの特異的な表面タンパク質を提示できるため、目的のエクソソームがどこでつくられたのかわかる。
- ・carcinoembryonic antigen (CEA) などの従来の血清ベースのバイオマーカーよりも診断精度が優れている。

しかし、エクソソームの種類によって回収方法は多岐にわたり、方法ごとに純度や効率が異なります。臨床用途として広く使用するためには、採取する体液の量がより少なくて済み、効率よく純度の高いエクソソームの回収方法を標準化する必要があるなどの課題があります。

参考文献: Biting, Zhou, et al., *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5, 144 (2020).

その他のバイオマーカー

血清、血漿試料中に含まれるセルフフリー核酸 (cfNA) は、セルフフリー DNA (cfDNA) およびセルフフリー RNA (cfRNA) からなり、その主な由来は次の2つとなります。ひとつは各種組織においてアポトーシスまたはネクローシスを起こした細胞の溶解時に放出されたもので、もうひとつはエクソソームなどの微小小胞体として分泌された粒子中に含まれるものです。後者は遠く離れた細胞との情報伝達に用いられています。

しかし、cfNA の利用にはまだ課題があります。第一に「検出に必要な量の cfNA を得るためには多量の試料を必要とすること」、第二に「高濃度の血漿タンパク質や不純物を除去し効率的な cfNA 回収が困難であること」が課題です。

リキッドバイオプシーによるバイオマーカー探索に有用な cfDNA, cfRNA 精製キットなどをご紹介します！



Web ページ番号

65493



Web ページ番号

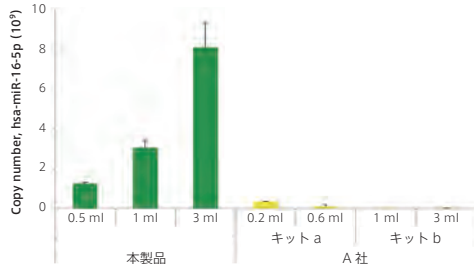
65893



生体液からの cfRNA 精製キット Quick-cfRNA Serum & Plasma Kit

血清・血漿などの生体液から、cfRNA だけを迅速かつ簡単に抽出・精製できるキットです。

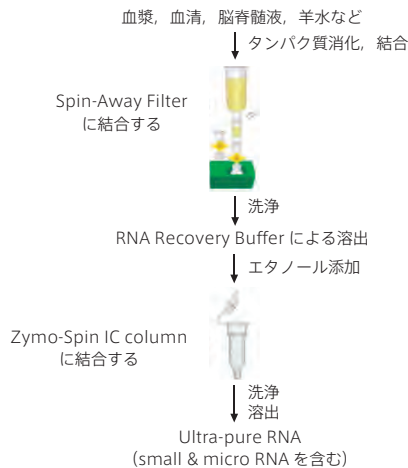
使用例



cfRNA 収量比較

ヒト血漿から本製品または A 社 cfRNA 抽出キットを用いて miR-16-5p を抽出した。その結果、本製品を用いた場合、A 社に比べ最大 515 倍の収量が得られた。

操作方法概略



※本製品を用いた cfRNA の抽出、精製 (Spin-Away Filter への結合ステップ) には、Vacuum Manifold が必要です。EZ-Vac Vacuum Manifold (#S7000) の使用を推奨します (Web ページ番号 : 64397)。

特長

フォーマット	試料量	結合容量	溶出液量	使用回数
バキューム+遠心	≦3 ml	試料による	6~15 µl	50 preps

品名		包装 / 価格 (¥)
メーカー	商品コード	
ZYMO RESEARCH	ZYR R1059	1 kit / 69,000

※ ZYR R1059 には赤い X が付いています。

キット内容 : Proteinase K & storage buffer, Quick-cfRNA digestion buffer, Quick-cfRNA binding buffer, RNA recovery buffer, RNA prep buffer, RNA wash buffer, DNase/RNase-free water, Spin-Away filters, Spin-Away filter reservoirs, Zymo-Spin IC columns, Collection tubes

こちらもオススメ

Quick-cfDNA/cfRNA Serum & Plasma Kit

3 ml までの血清、血漿などの各種生体液試料から、高品質のセルフリー DNA (cfDNA) およびセルフリー RNA (cfRNA) を簡便かつ確実に精製できるキットです。cfDNA、cfRNA の個別精製または共溶出の 2 種類のプロトコルを選択できます。



Web ページ番号

68075



血清または血漿からの cfDNA 精製キット cfMAX cfDNA Isolation System

血清または血漿から、高品質 cfDNA を高収量で精製できるキットです。

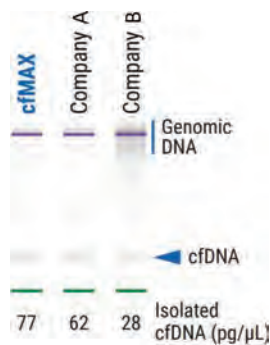
特長

- 長いゲノム DNA の混入を低減し、短い DNA フラグメントのみを精製回収します。
- 自動化装置にも対応します。
- リキッドバイオプシーによるバイオマーカー探索に有用です。

フォーマット	試料量	溶出液量	使用回数
磁気ビーズ	500 µl ~ 8 ml	血漿 1 ml あたり 20~30 µl	血清または血漿 80 ml 分

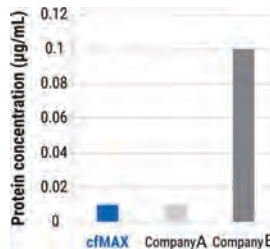
※別途、磁気スタンドおよび無水エタノールが必要です。

使用例



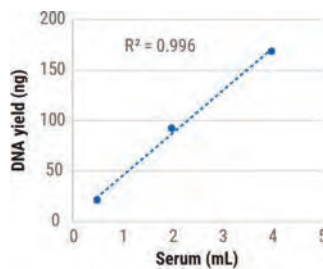
ゲノム DNA の混入がより少ない

血漿 (2 ml) から、本製品または他社製品を使用して cfDNA を精製した。



タンパク質のキャリーオーバーがより少ない

血清 (2 ml) から、本製品または他社製品を使用して cfDNA を抽出し、タンパク質の混入を確認した。



試料量に関わらず一定した収量が得られる

血清 (0~5 ml) から、本製品を使用して cfDNA を精製した。

品名		包装 / 価格 (¥)
メーカー	商品コード	
SBI	CFMAX100A-1	1 kit / 75,000

キット内容 : Magnetic beads, Lysis / Binding buffer, Wash buffer, Elution buffer



cfDNA 増幅キット

TruePrime Necrotic Cell-free / Exosomal DNA Amplification Kit

cfDNA (セルフリー DNA) に含まれる腫瘍細胞由来の長鎖 DNA を、優先的に増幅します。腫瘍マーカー DNA の解析や、リキッドバイオプシー研究に有用です。

特長

- ネクローシスを起こした細胞や、エクソソームなど細胞外小胞由来の **1~20 kb の長鎖 DNA** の増幅に適しています。
- 100 pg のセルフリー DNA から増幅できます。
- 合成ランダムプライマーを用いない TruePrime テクノロジーを用い、**ランダムプライマーによるアーティファクトや、外部 DNA 汚染の影響を低減**します。
- バイアスが少なく、かつゲノムのカバー率が高い増幅 DNA が得られ、PCR・次世代シーケンシング (NGS) での使用に適しています。
- 得られた増幅 DNA は異なるシーケンシング法を用いて解析しても、SNV (一塩基多様性) および各 SNV の存在頻度が保たれています。

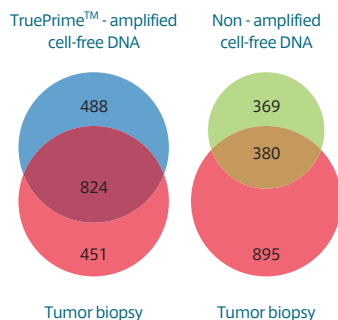
ここがすごい

TruePrime テクノロジーとは

Phi29 DNA polymerase を用いた DNA 増幅方法は Multiple strand Displacement Amplification (MDA) 法と呼ばれ、シングルセルからの均一な DNA 増幅が可能な方法として注目されています。しかし、合成ランダムプライマーを使用することから、プライマー由来のバイアスが生じることが知られています。

4basebio 社は、Phi29 DNA polymerase と新規の DNA プライマーゼ TthPrimPol を組み合わせ、ランダムプライマーによるアーティファクトや、外部 DNA 汚染の影響を低減した TruePrime Cell-free DNA Amplification Kit を開発しました。

使用例



S 状結腸未分化腺がん (ステージ: T4a M1a L1 G4) 患者の腫瘍生検由来 DNA およびセルフリー DNA を用いて、がん関連 50 遺伝子について SNV (一塩基多様性) をシーケンシングにより確認した。

未増幅のセルフリー DNA (右) と比べて、本キットで増幅したセルフリー DNA (左) は、検出された腫瘍生検由来 DNA の割合、カバー率が高いことがわかる。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Necrotic Cell-free/Exosomal DNA Amplification Kit, TruePrime			
SYN	330025	25 reactions	1 kit / 131,000

※別途、cfDNA を精製するキットが必要です。

※本製品は、ご注文時に専用の MTA (Material Transfer Agreement) が必要です。Web ページ番号: 68004 に記載の MTA に必要事項をご記入の上、ご利用の販売店担当者にお渡し下さい。



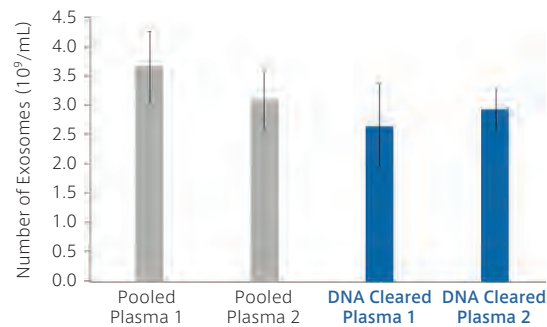
cfDNA 研究のコントロールに DNA Cleared Plasma

健常なヒト血漿から cfDNA (セルフリー DNA) を除去した製品です。未処理の血漿と同様の生化学的および生理学的組成を有しており、ブランクベースラインコントロールとして理想的です。

※本製品は HIV, HBV, HCV, HTLV, 梅毒トレポネーマが陰性であることを確認していますが、取り扱いには十分ご注意ください。

特長

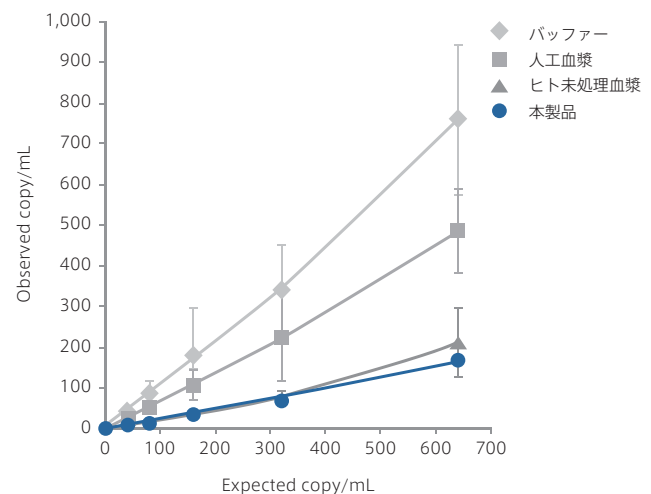
- 本製品に含まれている細胞外小胞 (EV) の量・組成は未処理血漿と同程度であり (下図参照) また形態的にも正常です。



本製品および未処理血漿に含まれる細胞外小胞数

- 本製品に添加した DNA は、2~8°C 保存で 270 日間以上安定です。
- 患者由来試料の代替として人工血漿よりも模倣度が高く、また人工血漿と同程度の安定性を有します。
- Ready-to-Use の製品です。

使用例



ヒト未処理血漿および各種代替溶液からの DNA 抽出特性

各種代替溶液に既知量の合成 DNA 断片を添加し、DNA を抽出した後、qPCR で DNA 断片のコピー数を測定し、測定値 (縦軸) と予測値 (横軸) でプロットした。各種代替溶液のうち、本製品のみがヒト未処理血漿とほとんど同様の結果を示し、cfDNA 研究におけるコントロールとして適していることが示された。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
DNA Cleared Plasma			
SBI	DCP100A-1		100 ml / 75,000

1 塩基の差を正確に見分けられます！

miRNA 検出・定量試薬 ID3EAL シリーズ



TO KNOW IS TO ACT

Web ページ番号

68276



独自の ID3EAL (アイディール) テクノロジーにより, qPCR による高感度かつ高精度な miRNA 検出・定量を行う試薬です。相同性の高い miRNA 配列の判別や微量試料の検出に極めて優れたパフォーマンスを示します。

特長



極めて高い検出特異性

相同性の高い miRNA も極めて高い精度で識別。1 塩基程度の差しかないアイソフォームも、明確に識別します。



シンプルで迅速なワークフロー

他社製品では cDNA の合成から qPCR の結果を得るまで 3 時間かかるのに対し, ID3EAL テクノロジーは **2 時間で完了**。



優れた検出感度と増幅効率

高い増幅効率を実現し **微量な miRNA を検出可能**。通常は増幅が難しいとされる AT 含有率の高い miRNA でも他社製品に比べて **高効率**に検出。



高い再現性

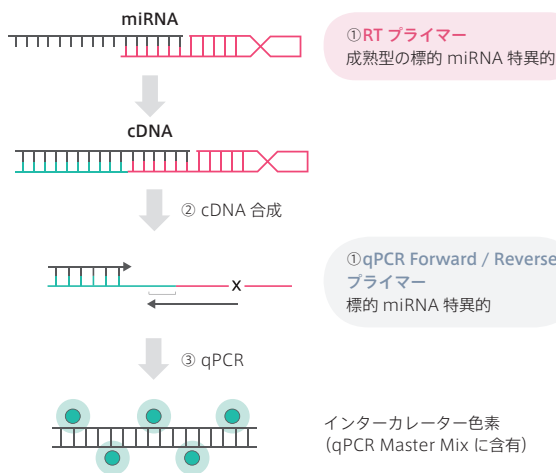
2 ケ所の研究室で 1 年以上にわたって 30 人のがん患者由来の血清中に含まれる 200 種の標的 miRNA を解析した例では, 相関係数 0.92~0.96 という **非常に高い再現性**が得られた。

MEMO

シンガポール国立大学 (NUS) の Prof. Too Heng-Phon が, NUS とシンガポール科学技術研究庁 (A*STAR) とで共同開発された miRNA 検出技術に基づき, MiRXES 社を起業しました。

ここがすごい

ID3EAL テクノロジーでは RT プライマー, qPCR フォーマット, Reverse プライマーすべてにおいて **miRNA 特異的なプライマー**が設計されています。ユニバーサルプライマーを使用する既存手法よりも優れた検出特異性と検出感度を実現しています。



製品ラインナップ

①~③は合わせてご購入下さい。

① RT プライマー / qPCR 用プライマーペア

ヒトやマウスをはじめとする様々な生物種の miRNA **約 35,000 種**に対応する **プライマー**をラインナップしています。ラインナップの詳細や価格はフナコシ Web をご覧下さい。

② cDNA Synthesis System

cDNA の合成に必要な逆転写酵素, バッファアのセットです。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ID3EAL cDNA Synthesis System			
MRX		1103101	20 tests / 17,100
MRX		1103103	60 tests / 24,300
キット内容: ID3EAL reverse transcriptase, ID3EAL miRNA RT buffer			

③ qPCR Master Mix

ご使用の qPCR 装置に合わせて製品をご選択下さい。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ID3EAL miRNA qPCR Master Mix			
MRX		1104202	標準タイプ 200 tests / 20,700
MRX		1104212	Hi-ROX タイプ 200 tests / 20,700

■ Spike-in Control RNA (ポジティブコントロール用 RNA)

ポジティブコントロールとして試料に添加し, 各試料間での検出結果のばらつきを比較することで, 実験操作が適切に行われたかどうかの確認や, 実験データの標準化および正確な解析を行うことが可能です。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
ID3EAL Complete Spike-in RNA Kit			
MRX		1102153	標準タイプ 50 tests / 59,400
MRX		1102193	Hi-ROX タイプ 50 tests / 59,400
コントロール RNA, プライマー, 酵素, バッファアがセットになったキット。			

こちらもオススメ

スターターキット

お客様が選んだ 2 種類の miRNA に対するプライマーと必要試薬を含むセット。初めて ID3EAL シリーズを使う人にオススメです。

パネル製品

特定の疾患などに関連する miRNA を網羅的に検出できるパネル製品。

販売店





フナコシ株式会社 〒113-0033 東京都文京区本郷2丁目9番7号
<https://www.funakoshi.co.jp/> e-mail : info@funakoshi.co.jp
 試薬に関して : Tel.03-5684-1620 Fax.03-5684-1775
 e-mail : reagent@funakoshi.co.jp
 機器に関して : Tel.03-5684-1619 Fax.03-5684-5643
 e-mail : kiki@funakoshi.co.jp

※本紙に記載されている価格は, 2021年8月1日現在です。

FUN-7160 (2021.8, No.731)