

CD9/CD9 Exosome ELISA キット

CD63/CD63 Exosome ELISA キット

血液サンプルや細胞培養上清からエクソソームを直接定量！

エクソソームは生体を構成するほぼすべての細胞から分泌される直径 30~200 nm の小胞で、血液や尿などあらゆる体液中に存在します¹⁻⁵。また、*in vitro* では動物細胞の培養上清にも分泌されます。エクソソームは細胞と同様に脂質二重膜に包まれており、その表面には膜タンパク質が存在し、また、内部にはタンパク質やマイクロ RNA などが含まれています。エクソソームを取り込んだ標的細胞において、これらのタンパク質やマイクロ RNA が機能することによって、エクソソームは細胞間のコミュニケーションを担っていると考えられます⁶。エクソソームの構造上の特徴の一つとして表面上に存在するテトラスパンニンファミリーが挙げられます。CD9 や CD63 はそのメンバー分子で、エクソソームの表面マーカーでもあります⁷。

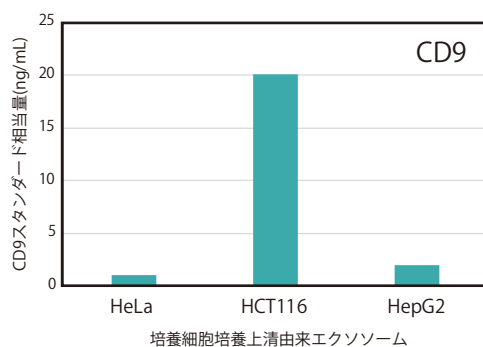
エクソソームの定量法としては、エクソソームが含むタンパク質量で代替したり、ナノトラッキング法による粒子解析がありますが⁸、これらの方法は超遠心法などで一旦エクソソームを精製する必要があります。体液や細胞培養液中のエクソソームを直接定量する手段は極めて限られており、これまで一般的な方法は開発されてきませんでした。

本キットは、エクソソーム・マーカーである CD9 と CD63 それぞれに対する高性能抗体を用いたサンドイッチ ELISA により、表面に CD9 あるいは CD63 分子を持つエクソソームを相対的に定量することができます。

● 特 長

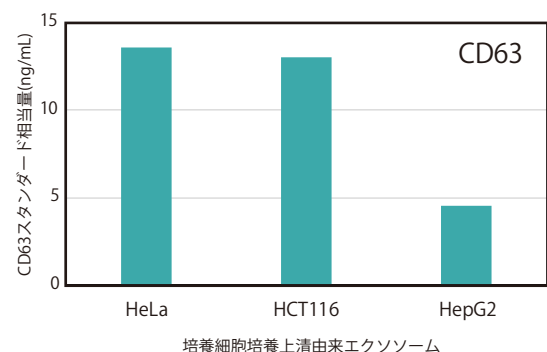
- 血液サンプルや細胞培養上清 (無血清) などに含まれるエクソソームを直接定量可能
- 特殊な装置は不要で、通常のプレートリーダーがあれば測定可能
- 標準試薬として保存安定性に欠けるエクソソームそのものを使用せず、CD9 あるいは CD63 を固定した粒子径 200 nm のビーズを利用することで安定性と再現性を確保
- エクソソーム構造を模した CD9 あるいは CD63 スタンダードビーズにより補正することで各サンプルの相対定量が可能
- 固相化した CD9 あるいは CD63 抗体でエクソソームを捕捉し、HRP 標識した CD9 あるいは CD63 抗体で検出

● データ例



標準タンパク質ビーズ換算 (ng/mL)	HeLa	HCT116	HepG2
exosome 500 ng/mL	1.0	20.1	2.0

図1 CD9/CD9 ELISAによる精製エクソソームの定量



標準タンパク質ビーズ換算 (ng/mL)	HeLa	HCT116	HepG2
exosome 500 ng/mL	13.6	13.0	4.5

図2 CD63/CD63 ELISAによる精製エクソソームの定量

3種類のヒトがん細胞株 (HeLa, HCT116, HepG2) の培養上清 (無血清) から超遠心法で精製したエクソソームを 500ng/mL の濃度に希釈し、それぞれ CD9/CD9 ELISA (図1) あるいは CD63/CD63 ELISA (図2) で測定した。定量値は CD9 (あるいは CD63) タンパク質を固定したスタンダードビーズによる標準曲線にあててそれぞれのスタンダードビーズ相当量 (ng/mL) で示した。その結果、細胞種によって表面の CD9, CD63 の相対量に特長があることが分かった。





ヒト由来エクソソーム定量用 CD9/CD9 Exosome ELISA キット CD63/CD63 Exosome ELISA キット



● キット構成

品番：HAK-HEL0909-1

	内容	容量	数量
1	抗 CD9*1 抗体固相化 96 ウェルプレート	8-well x 12 strips	1 枚
2	CD9*1 スタンダードビーズ	200 μ L	1 本 *2
3	アッセイバッファ	25 mL	1 本
4	洗浄バッファ (10X)	25 mL	1 本

	内容	容量	数量
5	HRP 標識抗 CD9*1 抗体 (500X)	20 μ L	1 本
6	基質液	12 mL	1 本
7	停止液 (2N H ₂ SO ₄)	6 mL	1 本
8	プレートシール	—	2 枚

*1: 品番 HAK-HEL6363-1 は、CD63

*2: n=2 として、検量線 4 回分

● 参考文献

- (1) J. Skog, T. Wurdinger, S. van Rijn, D. H. Meijer, L. Gainche, M. Sena-Estevés, W. T. Jr. Curry, B. S. Carter, A. M. Krichevsky and X. O. Breakefield: *Nat Cell Biol.*, **10**, 1470 (2008).
- (2) T. Pisitkun, R. F. Shen and M. A. Knepper: *Proc Natl Acad Sci USA.*, **101**, 13368 (2004).
- (3) S. Runz, S. Keller, C. Rupp, A. Stoeck, Y. Issa, D. Koensgen, A. Mustea, J. Sehoul, G. Kristiansen and P. Altevogt: *Gynecol Oncol.*, **107**, 563 (2007).
- (4) S. Keller, A. K. König, F. Marme, S. Runz, S. Wolterink, D. Koensgen, A. Mustea, J. Sehoul and P. Altevogt: *Cancer Lett.*, **278**, 73 (2009).
- (5) C. Lasser, V. Seyyed Alikh S. Gabriellsson, J. Lotvall and H. Valadi: *J Transl Med.*, **9**, 9 (2011).
- (6) Y. Naito, Y. Yoshioka, Y. Yamamoto and T. Ochiya: *Cell Mol Life Sci.*, **74**, 697 (2017).
- (7) A. Zoraida and M. Yáñez-Mó: *Front Immunol.*, **5**, 442 (2014).
- (8) V. Filipe, A. Hawe and W. Jiskoot: *Pharm Res.*, **27**, 796 (2010).

測定値の標準化

CD9 スタンダードの測定結果から得られたグラフを検量線とし、例えば 10 ng/mL を 1 U/mL とした場合、その OD₄₅₀ 測定値は約 1.4 になっています (図 3(a))。サンプルである HCT116 由来エクソソームの OD₄₅₀ 測定値が 1.4 に相当するのは図 3(b) よりエクソソーム約 200 ng/mL のタンパク質換算量に相当します。すなわち、HCT116 細胞由来エクソソーム約 200 ng/mL を 1 U/mL の CD9 陽性エクソソームとみなすことができます。このようにして、異なるサンプル間、あるいは異なる実験間のエクソソーム測定値をすべてユニットで示すことにより標準化して測定値を補正することができ、検体中のエクソソーム量を直接比較することが可能となります。

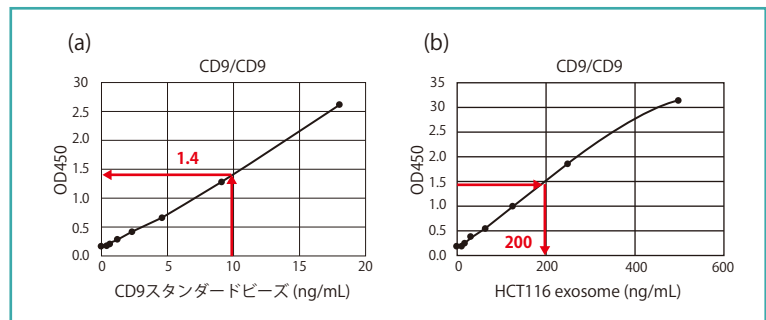


図3 CD9スタンダードビーズによる標準化と相対定量の概要

● 商品情報

品名	品番	株式会社ハカレル 包装	メーカー略号：HAK 希望販売価格
NEW ヒト由来エクソソーム定量用 CD9 / CD9 ELISA キット CD9/CD9 Exosome ELISA Kit, Human	HAK-HEL0909-1	1キット	¥100,000
NEW ヒト由来エクソソーム定量用 CD63 / CD63 ELISA キット CD63/CD63 Exosome ELISA Kit, Human	HAK-HEL6363-1	1キット	¥100,000

詳しい情報は、コスモ・バイオ Web サイト「記事 ID 検索」で、[35555](#) クリック！

取扱店

お願い / 注意事項 記載の社名・商品名等の名称は、弊社または各社の商標または登録商標です。

(希望販売価格) 記載の希望販売価格は 2019 年 4 月 1 日現在の価格で、予告なく改定される場合があります。また、「希望販売価格」[キャンペーン中の参考価格]は参考価格であり、販売店様からの実際の販売価格ではございません。ご注文の際には販売店様へご確認くださいませ。表示価格に消費税は含まれておりません。

(使用範囲) 記載の商品およびサービスは全て、「研究用」です。人や動物の医療用・臨床診断用・食品用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。

<http://www.cosmobio.co.jp/>



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

- 商品の価格・在庫・納期に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9630 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9623
- 商品に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9610 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9619

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル