

LeukoComplete™ 製品

- ▶ LeukoComplete™ Plate and RT Kit
- ▶ LeukoComplete™ Gene Detection Kit
- ▶ LeukoComplete™ Antigen Coated Plate



***Cellular immunity assay based on
mRNA detection***

Canon Medical Diagnostics Corporation



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

ワクチン開発における細胞性免疫検査の位置付け

従来より液性免疫が免疫応答の重要な指標としてワクチン開発がなされてきましたが、免疫応答の特性評価には、免疫記憶や免疫関連指標（Correlates of Protection）もまた重要です。これはWHO、EMA（欧州医薬品庁）、FDA、CEPI等から発行されている文書に記載されています。また、今後も起こるであろう新興感染症Xに対して、より迅速に・より有効なワクチンを・あらゆる人のもとに届けることは極めて重要であり、それに資するワクチン開発技術は極めて重要と考えられます。

[1] Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations (WHO Technical Report Series No. 1004 Annex 9)
[2] Guideline on clinical evaluation of vaccines
[3] Development and Licensure of Vaccines to Prevent COVID-19
[4] Standardized immunological assays for assessing COVID-19 vaccines by the CEPI-Centralized Laboratory Network

なぜ遺伝子をみるのか？

研究対象とする抗原、アジュバント、およびその処方が効果的に免疫応答を誘導するかどうかは、探索研究から臨床研究までワクチン開発全般で重要なリサーチエスションです。「免疫応答が誘導されるかどうか」をいち早く調べることができるのが**遺伝子発現検査**です。その後、遺伝子発現が増加し合成・分泌されたタンパク質は、免疫細胞の機能の指標（機能）として、タンパク質検査法で検出されます。

Gene Expression vs. Cytokine Assays		
Cytokine Gene Expression		Cytokine Protein Secretion (ELISA, ELISPOT)
Measure	Gene Expression	Protein Secretion
Timing	Early	Later
Early Sensitivity	High	Low
Assay Reason	Immune Confirmation	Functional Validation
Standardization	High	Variable
Type	Molecular	Functional
Value	Risk Reduction	Activity Proof

“Gene expression is the immune system’s intent.”

Protein secretion is the immune system’s outcome.”

LeukoComplete™ という新たなソリューション

キヤノンメディカルダイアグノスティックスのLeukoComplete™ 製品は、免疫細胞の遺伝子発現を短時間で簡便に測定できるように設計された All-in-one キットです。**特殊な操作・装置は不要、従来のワクチン開発工程にそのまま導入することで、試験計画の最適化に貢献します。**

“Use LeukoComplete™ first, then validate with ELISpot/ELISA.”

- 抗原、アジュバントのスクリーニング
- 処方の最適化（全血使用）
- 最適なマーカー遺伝子を網羅的に探索／マルチプレックス測定

“Verify gene upregulation, or otherwise the protein secretion is subtle.”

- リード候補の確実なスクリーニング
- 貴重、微量な試料を用いた実験
- 免疫応答をcDNAに保存、長期保存とアーカイブ分析

“Integrate LeukoComplete™ as risk-mitigating layer for fast decision making.”

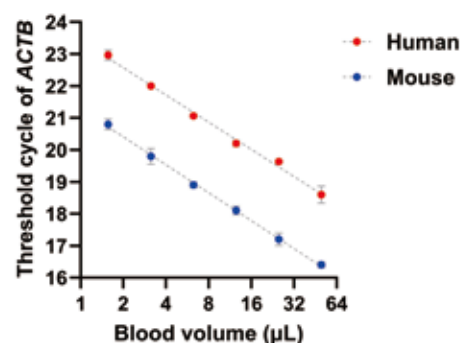
- リソースを要するELISpotアッセイへ進む前の判断ステップ
- 意図しない遺伝子発現／細胞毒性の予兆の検出

コンセプトデータのご紹介

✓ 良好な白血球由来mRNA抽出能

LeukoComplete™ Plate and RT kit (11130) を用いて、ヒトおよびマウスのヘパリン血液（50 μ L ~ 1.56 μ L）から白血球由来mRNAの抽出・精製・cDNAの合成を実施した。LeukoComplete™ Gene Detection Kit for ACTB (11150) を用いて、定量PCRによりACTBを検出した。

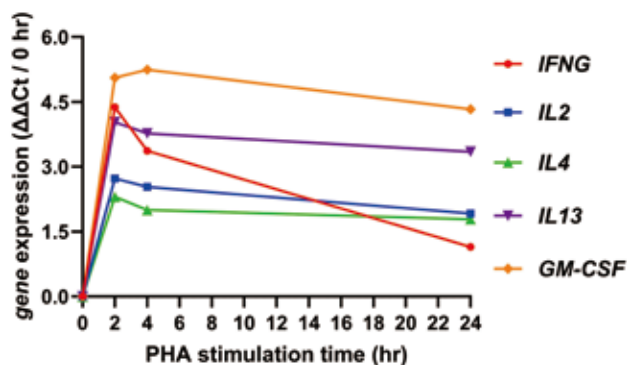
➤ 相関係数 $R = 1.00$ であり、良好な直線性を示した。



✓ 数時間のT細胞刺激でサイトカイン遺伝子発現応答を検出

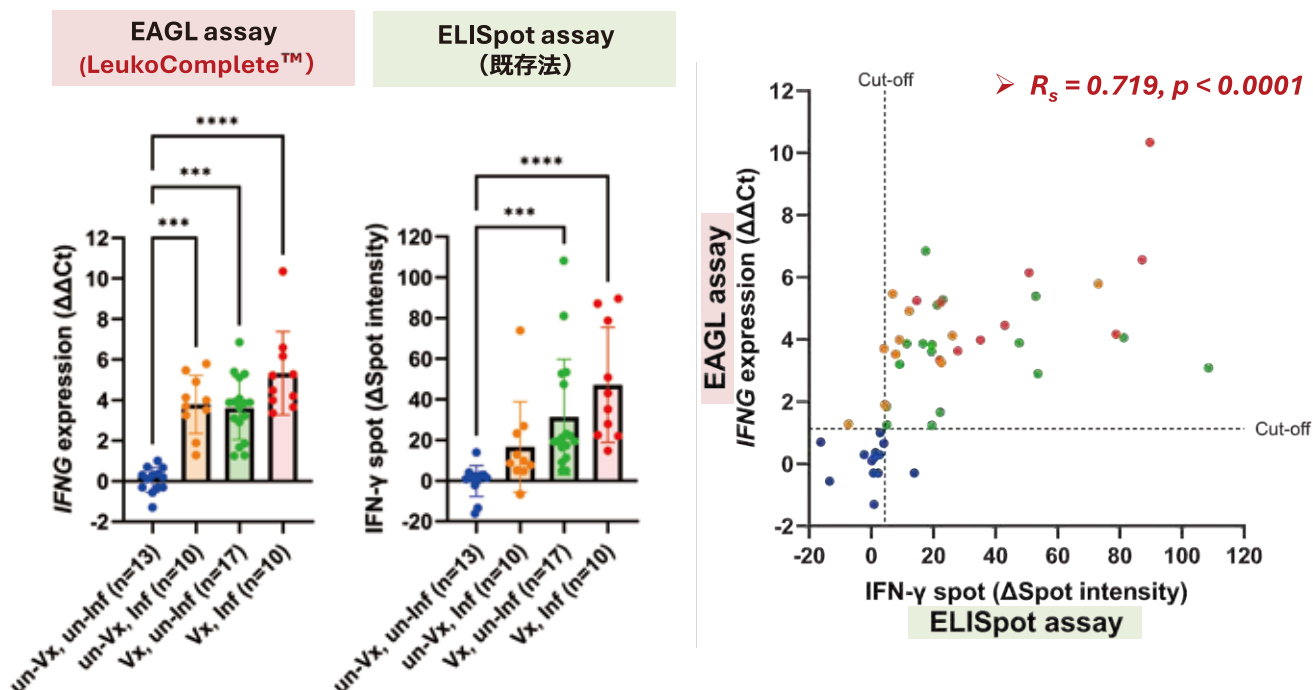
ヒト新鮮血 (n = 5) を1 μ g/mL PHAあるいはPBSと混合し、37°Cで0, 2, 4, 24時間培養後、LeukoComplete™ キットを用いて、各種サイトカイン遺伝子の検出を行った。測定値は比較Ct法により、コントロール遺伝子の発現量でノーマライズ後、PHA刺激とPBS刺激の差分を算出した。

➤ いずれのサイトカイン遺伝子においても刺激から2~4時間で発現変動がピークを迎えた。



各折れ線は5名の新鮮血を用いた測定値の平均値を表す。

✓ 新型コロナウイルス抗原に対する細胞性免疫応答を既存法と同等の性能で評価



統計解析 : ANOVA, Kruskal-Wallis test; p-val: * < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001, **** < 0.0001, Cut-offはROC解析により算出, Spearman順位相関解析
対象者 : Vx, un-Inf; SARS-CoV2感染歴のないCOVID19mRNAワクチン初回接種者17例、Vx, Inf; SARS-CoV2感染歴のあるCOVID19mRNAワクチン初回接種者10例、un-Vx, Inf; COVID-19ワクチン接種歴のないSARS-CoV2既感染者10例 (Vx, Infはいずれも抗SP抗体陽性であることを確認済)
ELISpot : サンプル; 0.4 × 10⁶ PBMCs, 抗原; SARS-CoV-2スパイクタンパク質のオーバーラップペプチドプール, 抗原刺激条件; 37°C, 72 hr, 5%CO₂
EAGL : サンプル; 0.1 mL ヘパリン新鮮血, 抗原; SARS-CoV-2スパイクタンパク質のオーバーラップペプチドプール, 抗原刺激条件; 37°C, 4 hr, 5%CO₂

キット構成品

■ LeukoComplete™ Plate and RT Kit (Cat. #11130)

➢ 白血球由来mRNAを分離・精製しcDNAを合成

構成品	容量・本数	保存温度
PT Buffer	1 × 15 mL	2-30 °C
Leukocyte Isolation Plate	1	2-30 °C
Deep Well Plate	1	2-30 °C
Proteinase K	1 × 30 µL	2-30 °C
TCEP	1 × 300 µL	2-30 °C
Lysis Buffer	1 × 6 mL	2-30 °C
mRNA Capture Plate	1	2-30 °C

構成品	容量・本数	保存温度
Wash Buffer A	1 × 30 mL	2-30 °C
Wash Buffer B	1 × 50 mL	2-30 °C
Aluminum Seal	1	2-30 °C
Reverse Transcriptase	1 × 40 µL	≦ -20 °C
RNase Inhibitor	1 × 10 µL	≦ -20 °C
RT Buffer	2 × 1.5 mL	≦ -20 °C

■ LeukoComplete™ Gene Detection Kit (Cat. # 11150)

➢ 白血球由来cDNAプール中の目的の遺伝子を検出

構成品	容量・本数	保存温度
Primer Mix*	1 × 100 µL	≦ -20 °C
PCR Enzyme Mix	1 × 500 µL	≦ -20 °C

Gene Detection Kitには、お得なパネル製品もございます。
詳しくはHPをご参照下さい。



ターゲット遺伝子リスト

遺伝子	ヒト	マウス	パネル製品の有無
<i>IFNG</i>	●	●	Th1 pathway panel Th1/2/17 panel Cytotoxicity panel
<i>IL2</i>	●	●	Th1 pathway panel
<i>TNFSF2</i>	●	●	Th1 pathway panel Cytotoxicity panel
<i>IL4</i>	●	●	Th2 pathway panel Th1/2/17 panel
<i>IL5</i>	●	●	Th2 pathway panel
<i>IL6</i>	●	●	Inflammatory panel
<i>IL10</i>	●	●	Inflammatory panel
<i>IL13</i>	●	●	Th2 pathway panel
<i>CXCL9</i>	●	●	-
<i>CXCL10</i>	●	●	-
<i>CXCL11</i>	●	●	-
<i>IL12A</i>	●	●	-
<i>IL12B</i>	●	●	-
<i>IL1A</i>	●	●	-
<i>IL1B</i>	●	●	Inflammatory panel

遺伝子	ヒト	マウス	パネル製品の有無
<i>IL17A</i>	●	●	Th17 pathway panel Th1/2/17 panel
<i>IL17F</i>	●	●	Th17 pathway panel
<i>IL18</i>	●	●	-
<i>IL22</i>	●	●	-
<i>IL23</i>	●	●	-
<i>IL27</i>	●	●	-
<i>GZMB</i>	●	●	Cytotoxicity panel
<i>CSF2</i>	●	●	Th17 pathway panel

コントロール遺伝子リスト

遺伝子	ヒト	マウス	パネル製品の有無
<i>ACTB</i>	●	●	いずれのパネルにも1種類の コントロール遺伝子検出試薬が 付属します。
<i>GAPDH</i>	●	●	
<i>B2M</i>	●	●	

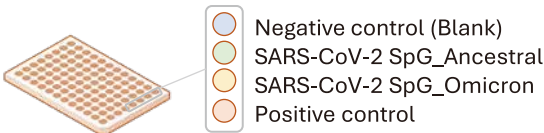
*ご購入の際は各遺伝子・パネルに紐づく品番をご参照ください。

■ LeukoComplete™ Antigen Coated Plate (Cat. # 11140)

➢ 試料中の抗原特異的T細胞を効率よく刺激

構成品	容量・本数	保存温度
Antigen Coated Plate for SARS-CoV-2**	1 (24 test)	2-30 °C

** SARS-CoV-2 SpGには、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の全長由来の
オーバーラップペプチド（15アミノ酸、11オーバーラップ）が含まれます。



その他の情報

【必要な機器】

- プレート用スイングローター式遠心機
- インキュベーター
- リアルタイムPCR装置
(ABI7500 Fast (ThermoFisher社), Rotor-Gene (QIAGEN社) など)

【LeukoComplete™製品の代表的な使用文献】

- [1] Mitsuhashi, M., et al., *Clinical Chemistry* (2006)
- [2] Mitsuhashi, M., et al., *Journal of immunological methods* (2010)
- [3] Mitsuhashi, M., et al., *Journal for Immuno Therapy of Cancer* (2013)
- [4] Saito, T., et al., *Biochem Biophys Res Commun* (2023)
- [5] Saito, T., et al., *Vaccine* (2025)



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)
E-mail: nouki@cosmobio.co.jp
- 商品に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9610 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
E-mail: mail@cosmobio.co.jp

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