

## エクソソームのフローサイトメトリー解析

### はじめに

エクソソームに代表される細胞外小胞は、表面または内部にタンパク質、mRNA、microRNA、DNA などを含み、細胞から分泌された後、血液、尿、唾液、髄液、母乳などの体液中で安定的に存在していることから、細胞間コミュニケーションのメッセンジャーや疾患のバイオマーカーとして注目を集めている。

PS Capture™ Exosome Flow Cytometry Kit は、細胞培養上清や体液検体に含まれる細胞外小胞をフローサイトメトリーにより定性解析することができる試薬で、細胞外小胞表面のホスファチジルセリン (PS) と特異的に結合するタンパク質が固相化された磁気ビーズ (Exosome Capture Beads) を用い、この磁気ビーズに細胞外小胞を反応させて固定化した後、任意の細胞外小胞マーカータンパク質に対する蛍光標識抗体を用いることで、目的のマーカータンパク質を高感度に検出することができる。

### COLO201 細胞培養上清に含まれるエクソソームのフローサイトメトリー解析

#### サンプル

COLO201 細胞培養上清 (33 $\mu$ L/Assay)

#### 実験手順

- ① PS Capture™ Exosome Flow Cytometry Kit のプロトコールに従い、COLO201 細胞培養上清からエクソソームを単離した。
- ② PE 標識アイソタイプコントロールまたは、PE 標識抗ヒト CD63 抗体でエクソソームを染色した。
- ③ セルソーターSH800 を用いてエクソソームのフローサイトメトリー解析を実施した。
- ④ PE 標識抗ヒト CD63 抗体で染色したサンプルに含まれる磁気ビーズの Singlet 画分(磁気ビーズが凝集していない画分) をセルソーターSH800 によりソーティングした。
- ⑤ ソーティングされた画分を再解析した。

## 結果と考察

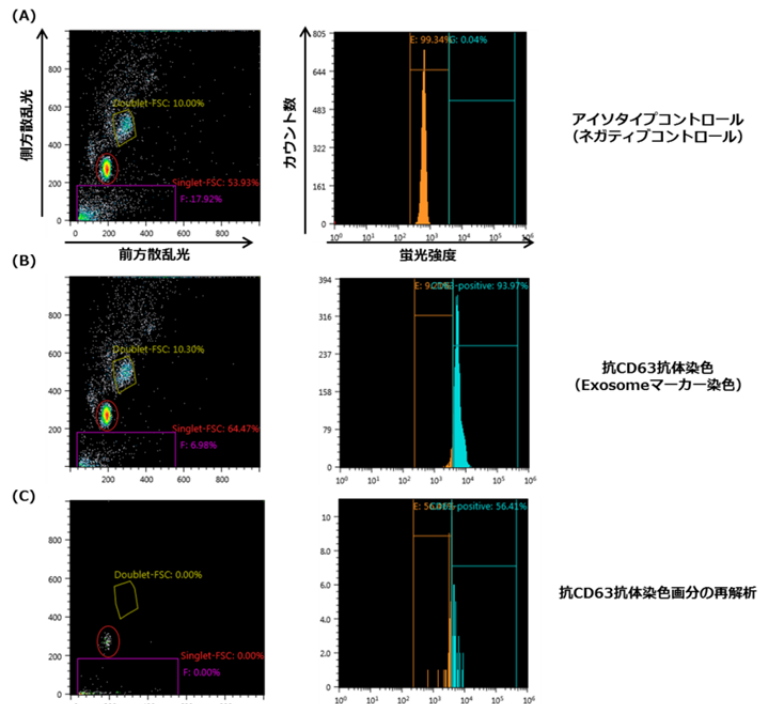


図1 COLO201細胞培養上清に含まれるエクソソームのフローサイトメトリー解析

(A) (B) Exosome Capture Beadsにより単離したCOLO201細胞培養上清由来エクソソームを、PE標識アイソタイプコントロール(A)またはPE標識抗ヒトCD63抗体(B)で染色した。前方散乱光と側方散乱光のプロット(左図)から磁気ビーズが凝集していない画分(Singlet画分)をゲーティングして、Singlet画分の蛍光強度をヒストグラム(右図)で示した。  
(C) PE標識抗CD63抗体で染色されたSinglet画分に含まれる磁気ビーズをソーティングした。ソーティング画分の磁気ビーズを再度フローサイトメトリー解析した。

COLO201細胞培養上清に含まれるエクソソームの表面マーカータンパク質CD63を、PS Capture™ Exosome Flow Cytometry KitとセルソーターSH800の組み合わせにより解析できた。また、エクソソームが結合した磁気ビーズのSinglet画分をセルソーターSH800によりソーティングして再解析した結果、ソーティング前とソーティング後でほぼ同一の蛍光強度のピークを得ることができた。このことから、PS Capture™ Exosome Flow Cytometry KitとセルソーターSH800の組み合わせにより、エクソソームの表面マーカータンパク質解析及びエクソソーム結合磁気ビーズのソーティングが可能であることが示された。

以上

<製品紹介URL>

PS Capture™ Exosome Flow Cytometry Kit : <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/01114.html>

セルソーター SH800 : <https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/equipment/products/00021.html>