

## 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

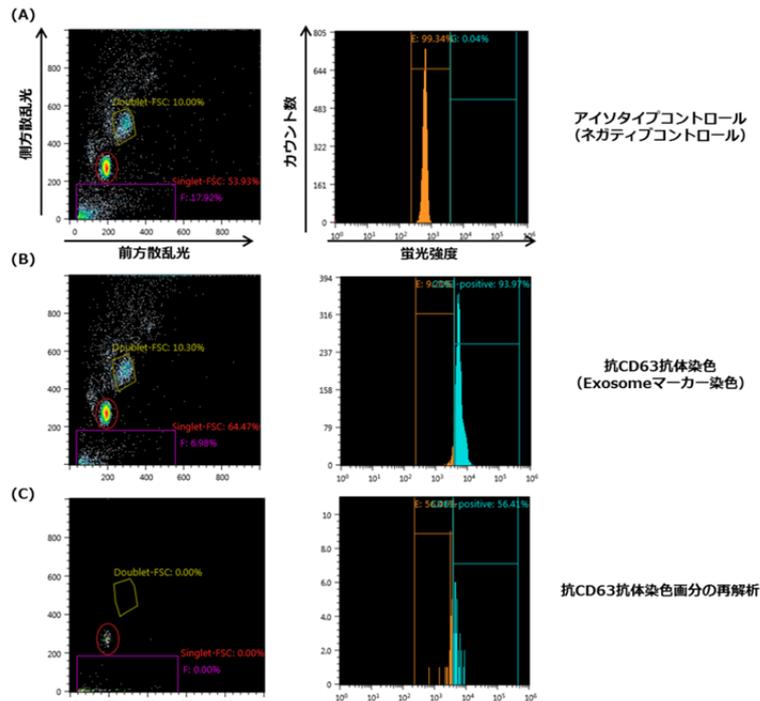


図1 COLO201 細胞培養上清に含まれるエクソソームのフローサイトメトリー解析

(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>