

CD63-Capture Human Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP)

【1. 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ます。

本キットは、細胞培養上清や体液検体中の細胞外小胞の定性解析および定量解析に利用できる酵素免疫測定試薬です。細胞外小胞表面マーカータンパク質として知られるヒト CD63 特異的に結合する抗体を固相化したプレートに細胞外小胞を反応させて捕捉した後、任意の細胞外小胞表面マーカータンパク質に対するビオチン標識抗体を一次検出に、キット付属の HRP 標識ストレプトアビジンを二次検出に用いることで、ヒト CD63 および任意のマーカータンパク質を表面に有する細胞外小胞を高感度に検出することが可能です。PS Capture™ Exosome ELISA Kit シリーズは動物種に依存することなくホスファチジルセリンを有する細胞外小胞を捕捉するのに対して、本キットはヒト CD63 を有する細胞外小胞を特異的に捕捉するため、マウスやラットなどの実験動物や FBS などウシに由来する細胞外小胞が含まれるサンプルを用いた場合においても、ヒト由来 CD63 陽性細胞外小胞を特異的に捕捉・検出することができます。さらに、本キットは二次検出に HRP 標識ストレプトアビジンを採用しているため、血液成分への非特異結合が低く、血清や血漿サンプルの測定にも適しています。また、任意の表面マーカータンパク質と CD63 を有する精製細胞外小胞を標準品に用いることで、サンプル中の細胞外小胞を相対定量することができます。なお、キットにはコントロール検出抗体としてビオチン標識抗ヒト CD63 モノクローナル抗体が含まれています。

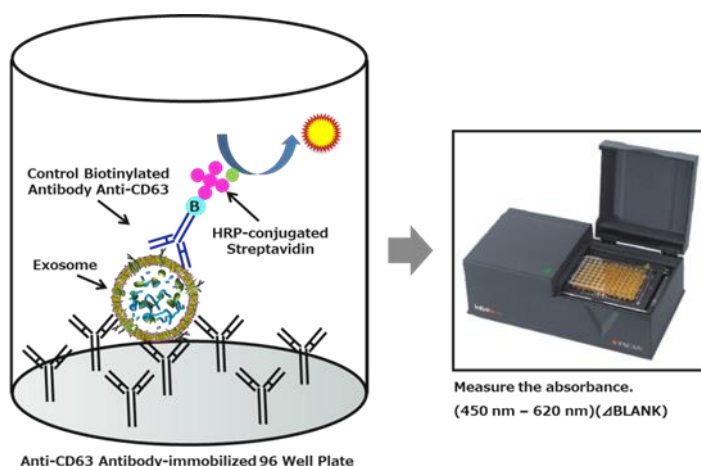


Figure. Measurement principle

【2. 測定方法の概要】

キット添付の Sample Reaction Buffer で希釈した細胞培養上清、体液または精製細胞外小胞サンプルを、Anti-CD63 Antibody-immobilized 96 Well Plate（抗 CD63 抗体固相化マイクロプレート）ウェルに加え、ウェル中で攪拌しながら室温で 2 時間インキュベートします。洗浄後、検出用一次反応液として任意の細胞外小胞表面マーカータンパク質に対するビオチン標識抗体またはキット付属のビオチン標識抗 CD63 抗体反応液（Control Biotinylated Antibody Anti-CD63）を加え、攪拌しながら室温で 1 時間インキュベートします。洗浄後、検出用二次反応液として HRP 標識ストレプトアビジン反応液を加え、攪拌しながら室温で 2 時間インキュベートします。再び洗浄した後、TMB Solution（発色試薬）を加え室温で 30 分間反応させ、Stop Solution を加えた後、450nm（副波長 620nm）の吸光度を測定します。測定後、各検体の測定値を比較してください。

本キットを定量測定に利用する場合は、MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS（Code No. 293-77601）または PS Capture™ Exosome Isolation Resin Kit（Code No. 290-80301）を用いて精製した細胞外小胞（事前に任意の表面マーカーを有することを確認しておくと共に、タンパク質濃度または粒子数を測定しておく）を標準品に用いて、その標準品希釈系列濃度に対して吸光度をプロットすることで標準曲線を作成し、この標準曲線から検体中の濃度を決定します。

【3. 用途】

(1) 細胞培養上清および体液検体から精製した細胞外小胞の定性解析

任意の細胞外小胞表面マーカータンパク質に対するビオチン標識抗体を一次検出に用いることで、細胞培養上清や体液検体中の細胞外小胞や、MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS (Code No. 293-77601) または PS Capture™ Exosome Isolation Resin Kit (Code No. 290-80301) を用いて精製した細胞外小胞の表面マーカータンパク質の定性解析を高感度に行うことができます。

(2) 細胞培養上清および体液検体中の細胞外小胞の定量解析

任意の表面マーカータンパク質を有する精製細胞外小胞や Exosomes, from COLO201 cells, purified (Code No. 052-09301) を標準品に用い、標準曲線を作成することで、細胞培養上清および体液検体中の任意の表面マーカータンパク質を有する細胞外小胞を相対定量することができます。

※キットのプレート固相化抗 CD63 抗体およびコントロールビオチン標識抗体である Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 はヒト CD63 を検出できますが、マウス、ラット、ウシ CD63 は検出できません。

【4. 構成品】

	構成品	状態	容量
(A)	Anti-CD63 Antibody-immobilized 96 Well Plate	洗浄後使用	8 well×12 strips / 1 枚
(B)	Plate Seal	—	4 枚
(C)	Sample Reaction Buffer	そのまま使用	50 mL×1 本
(D)	Antibody Reaction Buffer	そのまま使用	50 mL×1 本
(E)	Washing Buffer (10×)	調製後使用	100 mL×1 本
(F)	Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 (100×)	調製後使用	120 μL×1 本
(G)	HRP-conjugated Streptavidin(100×)	調製後使用	240 μL×1 本
(H)	TMB Solution	そのまま使用	12 mL×1 本
(I)	Stop Solution	そのまま使用	12 mL×1 本
(J)	取扱説明書	—	1 部

【5. キットの保存と使用期限】

キットは 2～10℃で保存して下さい（凍結厳禁）。この保存条件下でキットは有効期限まで安定です（有効期限はラベルに記載）。有効期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。開封した各試薬は、保管状態により影響を受ける可能性がありますので早めのご使用を推奨します。

【6. キットを分割使用する場合の各構成試薬の保存方法】

(A) Anti-CD63 Antibody-immobilized 96 Well Plate

プレートストリップを分割して使用する場合、残りの未使用のストリップはジップシールパックに戻し、そのまま 2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(C) Sample Reaction Buffer

冷蔵庫から取り出してすぐに必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(D) Antibody Reaction Buffer

冷蔵庫から取り出してすぐに必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(E) Washing Buffer (10×)

室温に戻して必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(F) Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 (100×)

冷蔵庫から取り出してすぐに必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(G) HRP-conjugated Streptavidin (100×)

冷蔵庫から取り出してすぐに必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(H) TMB Solution

冷蔵庫から取り出してすぐに必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

(I) Stop Solution

冷蔵庫から取り出してすぐに必要量の溶液を分注した後、残りの溶液は容器の蓋をしっかりと閉め、2～10℃で保存して下さい。有効期限内は安定です。

【7. キット以外に必要な試薬】 ～チェックリスト～

- 精製水（蒸留水）
- 任意の細胞外小胞表面マーカー検出用のビオチン標識抗体（ヒト CD63 以外を検出する場合）
ビオチン標識抗体が入手できない場合は、Biotin Labeling Kit-SH（Code No. 348-90941）または Biotin Labeling Kit-NH2（Code No. 347-90891）を用いて非標識抗体をビオチン標識することができます。
- 任意の細胞外小胞表面マーカーを有する精製細胞外小胞（定量解析を行う場合）
適切な細胞株培養上清または体液検体から MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS（Code No. 293-77601）または PS Capture™ Exosome Isolation Resin Kit（Code No.290-80301）を用いて細胞外小胞を精製し、準備してください。

【8. 必要な器具】 ～チェックリスト～

- 検体、抗体希釈用チューブ
- 反応/洗浄液調製用ガラス器具（メスシリンダーなど）
- マイクロピペット
- 連続分注ピペットまたは 8 連分注ピペット（あれば好ましい）
- ディスポーザブルリザーバー（8 連分注ピペットを利用する場合）
- ペーパータオル等の吸水性のあるもの（洗浄後にプレートに残った液を取り除く）
- ボルテックスミキサー
- 回転式マイクロプレート振とう器（約 500 rpm）
推奨品：Code No. 623-05671 プレートシェーカー-MS 3 digital
推奨品：Code No. 627-05691 プレートシェーカー-MS 3 basic
- 96 ウェルプレート用洗浄機（あれば好ましい）
推奨品：Code No. 510-22411 HydroFlex M8Ch2
- 96 ウェルプレートリーダー（450±10nm と 600～650nm が測定できる吸光度測定用）
推奨品：Code No. 518-84231 InfiniteF50R
- データ計算用ソフトウェア
推奨品：Code No. 290-34631 PLATEmanager V5/I PC SET (for infinite)

【9. 細胞外小胞標準品の作製（定量測定を行う場合）】

MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS（Code No. 293-77601）または PS Capture™ Exosome Isolation Resin Kit（Code No. 290-80301）を用いて、キット取扱説明書に従って、適切な検体から細胞外小胞を精製してください。精製した細胞外小胞は BCA 法などによりタンパク質濃度を測定するか、ナノトラッキング解析法により粒子数を測定してください^{※1}。また、本キットを用いた定性解析により、精製した細胞外小胞が任意の表面マーカータンパク質を有することを確認してから標準品としてご使用ください。精製した細胞外小胞は冷蔵で保管してください^{※2}。

※1 各測定は適切なプロトコールに従って行ってください。

※2 細胞外小胞は凍結融解により反応性が低下する傾向がありますので、冷蔵で保管することをお勧めします。凍結保存する場合は EV-Save™ Extracellular Vesicle Blocking Reagent（Code No. 058-09261）の使用をお勧めします。

【10. 試薬の調製】

【4. 構成品】で「そのまま使用」とある試薬は室温に戻した後、そのままの状態で使用できます。「調製後使用」とあるものについては下記の要領で調製してからご使用ください。各試薬は測定に必要な分だけ用時調製してください。

洗浄液(1×)の調製

室温に戻してから開封してください。

Washing Buffer (10×)を精製水（蒸留水）で 10 倍に希釈し、よく混合してください。

（例）96 ウェル反応分を調製する場合

100 mL の Washing Buffer (10×)に 900 mL の精製水（蒸留水）を加え 1,000 mL としてからよく混合する。

ビオチン標識抗 CD63 抗体反応液の調製（表面抗原としてヒト CD63 を測定する場合）

キット付属の Antibody Reaction Buffer に対して 1/100 量の Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 (100×)を添加し、よく混合してください。

（例）96 ウェル反応分を調製する場合

9.9 mL の Antibody Reaction Buffer に 100 μL の Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 (100×)を添加してよく混合する。

ビオチン標識抗体反応液の調製（ヒト CD63 以外の表面抗原を測定する場合）

任意の細胞外小胞表面タンパク質に対するビオチン標識抗体をキット付属の Antibody Reaction Buffer で適切な濃度に希釈してください。ビオチン標識抗体反応液の抗体濃度の目安は 100~500 ng/mL です。

（例）ビオチン標識抗体（1 mg/mL）からビオチン標識抗体反応液（250 ng/mL）を 96 ウェル反応分を調製する場合
195 μ L の Antibody Reaction Buffer に 5 μ L のビオチン標識抗体（1 mg/mL）を添加混合し、40 倍希釈液（25 μ g/mL）を作製する。その後 9.9 mL の Antibody Reaction Buffer に 100 μ L の 40 倍希釈液を添加してよく混合する。

HRP 標識ストレプトアビジン反応液の調製

ビオチン標識抗体にキット付属の Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 を使用する場合は、キット付属の Antibody Reaction Buffer に対して 1/100 量の HRP-conjugated Streptavidin (100 \times) を添加して、よく混合し、HRP 標識ストレプトアビジン反応液を調製してください。

ビオチン標識抗体に任意のビオチン標識抗体を使用する場合は、キット付属の Antibody Reaction Buffer に対して 1/50~1/200 量の HRP-conjugated Streptavidin (100 \times) を添加してよく混合し、HRP 標識ストレプトアビジン反応液（0.5 \times ~2 \times ）を調製してください^{※3}。

※3 キット付属の Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 以外のビオチン標識抗体を使用する場合は、抗体のビオチン標識効率などにより適切な HRP 標識ストレプトアビジン濃度が異なるため、終濃度 0.5 \times ~2 \times を目安に希釈濃度の予備検討を行ってから使用濃度を決定することを推奨します。

（例）ビオチン標識抗体にキット付属の Control Biotinylated Antibody Anti-CD63 を 96 ウェル全てに使用し、HRP 標識ストレプトアビジン反応液 96 ウェル反応分を調製する場合
9.9 mL の Antibody Reaction Buffer に 100 μ L の HRP-conjugated Streptavidin (100 \times) を添加してよく混合する。

【11. 標準曲線作成用の細胞外小胞標準品希釈系列の調製（定量測定を行う場合）】

【9. 細胞外小胞標準品の作製（定量測定を行う場合）】で作製した細胞外小胞標準品を ELISA 測定の 450 nm の吸光度値（副波長 620 nm の吸光度を差し引いた値）が 0.1~3.0 の範囲に入る希釈系列となるように、キット付属の Sample Reaction Buffer を用いて適切な濃度に希釈してください。

（例）細胞外小胞標準品（タンパク質濃 10 μ g/mL）について、80 ng/mL から 7 段階の 2 倍希釈系列を調製する場合
細胞外小胞標準品(10 μ g/mL)を下記の表の割合で Sample Reaction Buffer と混合し、80 ng/mL から 7 段階の 2 倍希釈系列を調製する。

標準溶液濃度(ng/mL)	標準溶液の容量	Sample Reaction Buffer
80.0	細胞外小胞標準品(10 μ g/mL) : 5 μ L	620 μ L
40.0	80.0 ng/mL の標準溶液 : 250 μ L	250 μ L
20.0	40.0 ng/mL の標準溶液 : 250 μ L	250 μ L
10.0	20.0 ng/mL の標準溶液 : 250 μ L	250 μ L
5.00	10.0 ng/mL の標準溶液 : 250 μ L	250 μ L
2.50	5.00 ng/mL の標準溶液 : 250 μ L	250 μ L
1.25	2.50 ng/mL の標準溶液 : 250 μ L	250 μ L
0.00 (Blank)	-	250 μ L

【12. 検体の希釈】

ELISA 測定の 450 nm の吸光度値（副波長 620 nm の吸光度を差し引いた値）が 0.2~2.5 の範囲に入るように、チューブなどを用いて検体をキット付属の Sample Reaction Buffer で 2 倍以上に希釈してください^{※4,5}。

※4 細胞培養上清、血清、ヘパリン血漿サンプルは 2 倍以上に希釈してください。他の検体についても 2 倍以上に希釈することを推奨します。

※5 検体中の細胞外小胞の濃度や検出対象の表面タンパク質マーカーの量などにより、適切な検体の希釈率は大きく異なりますので、検体を段階希釈して適切な希釈率を予備検討することを推奨します。

【13. 操作法】

下記の各洗浄ステップを始める前に、以下使用する試薬を【10. 試薬の調製】の調製法に従って前もって用意して下さい。

- 1) Anti-CD63 Antibody-immobilized 96 Well Plate（使用分のストリップ）の各ウェルを、洗浄液(1 \times) 300~350 μ L で 3 回洗浄する。その後、重ねたペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除く。
- 2) 検体希釈液、標準品希釈液（定量測定の場合）、ブランクとして Sample Reaction Buffer を各ウェルに 100 μ L ずつ分注する。
- 3) プレートシールを貼り^{※6}、マイクロプレート振とう器を用いて約 500 rpm で攪拌しながら室温（20~25 $^{\circ}$ C）で 2 時間反応させる^{※7}。

- 4) 反応終了後、反応液を捨て、各ウェルを洗浄液(1×) 300～350 μL で3回洗浄する。その後、重ねたペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除く。
- 5) ビオチン標識抗体反応液を各ウェルに 100 μL ずつ分注する。
- 6) プレートシールを貼り^{※6}、マイクロプレート振とう器を用いて約 500 rpm で攪拌しながら室温 (20～25℃) で1時間反応させる^{※7}。
- 7) 反応終了後、反応液を捨て、各ウェルを洗浄液(1×) 300～350 μL で3回洗浄する。その後、重ねたペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除く。
- 8) HRP 標識ストレプトアビジン反応液を各ウェルに 100 μL ずつ分注する。
- 9) プレートシールを貼り^{※6}、マイクロプレート振とう器を用いて約 500 rpm で攪拌しながら室温 (20～25℃) で2時間反応させる^{※7}。
- 10) 反応終了後、反応液を捨て、各ウェルを洗浄液(1×) 300～350 μL で5回洗浄する。その後、重ねたペーパータオルなどの上でプレートを逆さにし、軽く叩きつけるようにしてウェルに残った液を取り除く。
- 11) 各ウェルに室温に戻した TMB Solution を 100 μL ずつ分注し、マイクロプレート振とう器を用いて約 1 分間攪拌する。
- 12) プレートシールを貼り^{※6}、室温 (20～25℃) で 30 分間静置反応させる。
- 13) 各ウェルに室温に戻した Stop Solution を 100 μL ずつ添加する。
- 14) マイクロプレート振とう器を用いて約 5 秒間攪拌後、速やかに 96 ウェルマイクロプレートリーダーで 450 nm の吸光度と副波長 620 nm (600～650 nm) ^{※8} の吸光度を測定する。

※6 プレートストリップを分割して使用する場合、プレートシールをストリップのサイズに合わせてカットして使用してください。

※7 静置条件で反応させると検出感度が低下し、ウェル間誤差も大きくなる傾向がありますので、回転式マイクロプレート振とう器を用いて約 500 rpm で攪拌しながら反応させることを推奨します。

※8 副波長は 600～650 nm の範囲で使用できます。

【14. 計算】

以下の計算で使用する 450 nm 吸光度値は副波長 620 nm (600～650 nm) の吸光度値を差し引いた値を使用してください。

<定性測定の場合>

希釈検体の 450 nm 吸光度値からブランクの 450 nm 吸光度値を差し引いた値を算出し、検体間で比較してください。

<定量測定の場合>

- 1) 希釈検体の 450 nm 吸光度値からブランクの 450 nm 吸光度値を差し引いた値 (希釈検体吸光度値) を算出してください^{※9}。
- 2) 標準品希釈系列の 450 nm 吸光度値からブランクの 450 nm 吸光度値を差し引いた値 (標準品吸光度値) を算出してください。
- 3) X 軸を標準品濃度、Y 軸を標準品吸光度値の標準曲線グラフを作成してください^{※10}。
- 4) 標準曲線より、各希釈検体吸光度値に対応する濃度を読み取ります^{※11}。読み取った濃度に検体希釈率を乗じ測定値とします。

※9 希釈検体の吸光度値が標準曲線吸光度範囲から外れた場合は、適当倍率に希釈し直して再度測定を実施してください。

※10 標準曲線は測定毎に作成してください。

※11 コンピュータソフトでの演算処理では、3 次多項式、4 または 5 パラメーターの使用をお勧めします。

【15. 注意事項】

- ・ 準備並びに本キット操作中は手袋、眼鏡、保護用着衣を身につけてください。
- ・ 試薬類を皮膚に付けないでください。本キットの試薬が誤って、目、口、傷口、皮膚等に付着した場合は直ちに水道水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要な場合は医師の手当てを受けてください。
- ・ 感染の危険性がある検体は充分注意して取り扱って下さい。本キットは動物由来の成分を含みます。
- ・ 使用済みの検体、使用した消耗品等は 1%ホルマリン、2%グルタルアルデヒドまたは 0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸けてください。またはオートクレーブ滅菌処理して廃棄してください。使用済みの検体、使用した消耗品や未使用の薬品類は所属施設の規定並びに各地域の法令に従って廃棄してください。
- ・ 各ステップでの反応時には、ウェルの乾燥、異物の混入、温度の偏り、分注試薬の蒸発を防止する為、必ずプレートシールを貼ってください。
- ・ ELISA 法は測定環境により影響を受けます。測定操作、反応場所の室温：20～25℃ (実験台上またはインキュベータ内温度) を厳守してください。また、気流 (エアコン風を含む) や湿度が低い環境での測定は避けてください。
- ・ ウェル間のクロスコンタミネーションに配慮し測定を実施してください。

【16. 関連製品】

コード No.	品名	容量
297-79201	PS Capture™ エクソソーム ELISA キット(抗マウス IgG POD)	96 回用
298-80601	PS Capture™ エクソソーム ELISA キット(ストレプトアビジン HRP)	96 回用
296-83701	CD9-Capture エクソソーム ELISA キット(ストレプトアビジン HRP)	96 回用
292-83801	CD81-Capture エクソソーム ELISA キット(ストレプトアビジン HRP)	96 回用
299-77603	MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS	2 回用
293-77601		10 回用
294-84101	MagCapture™ エクソソームアイソレーションキット PS Ver.2	2 回用
290-84103		10 回用
290-80301	PS Capture™ エクソソームアイソレーションレジキット	1 キット(0.5 mL Slurry)
297-79701	PS Capture™ エクソソームフローサイトメトリーキット	300 回用
014-27763	抗 CD9, モノクローナル抗体 (1K)	100 µL
019-28173	抗 CD9, ラットモノクローナル抗体(77B)	100 µL
017-28211	抗 CD9, ラットモノクローナル抗体(77B), ビオチン結合	50 µL
019-27953	抗 CD9, ラットモノクローナル抗体(30B), ビオチン結合	100 µL
012-27063	抗 CD63, モノクローナル抗体 (3-13)	100 µL
014-27643	抗 CD63, モノクローナル抗体 (3-13), フルオレセイン結合	100 回用
017-27753	抗 CD63, モノクローナル抗体 (3-13), 赤色蛍光色素(635)結合	100 回用
019-27713	抗 CD63, モノクローナル抗体 (3-13), ビオチン結合	100 µL
011-27773	抗 CD81, モノクローナル抗体 (17B1)	100 µL
010-28223	抗 CD81, ラットモノクローナル抗体(9B)	100 µL
011-28111	抗 CD81, ラットモノクローナル抗体(9B), ビオチン結合	50 µL
052-09301	エクソソーム, COLO201 細胞由来, 精製品	50 µL
058-09261	EV-Save™ 細胞外小胞プロッキング試薬	1 mL

【17. 参考文献】

- 1) W. Nakai, et al., *Sci. Rep.*, **6**, 33935 (2016).
- 2) A. Kraft, W81 Award. (2017).
- 3) S. Osawa, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **488**, 232-238 (2017).
- 4) S. Nagashima, et al., *J. Virol.*, **91**(22), e00822-17 (2017).
- 5) T. Yoshida, et al., *Curr. Protoc. Cell Biol.*, **77**(1), 3.45.1-3.45.18 (2017).
- 6) S. Saito, et al., *Sci. Rep.*, **8**, 3997 (2018).
- 7) H. Kobayashi, et al., *Nagoya J. Med. Sci.*, **80**(2), 141-153 (2018).
- 8) Y. Obata, et al., *JCI Insight*, **3**(8), e99680 (2018).
- 9) R.C. Middleton, et al., *J. Extracell. Vesicles*, **7**(1), 1456888 (2018).
- 10) H. Kawahara, and R. Hanayama, *Biol. Pharm. Bull.*, **41**, 1119-1125 (2018).
- 11) M. Santiana, et al., *Cell Host & Microbe*, **24**, 208-220 (2018).
- 12) T.J. Antes, et al., *J. Nanobiotechnol.*, **16**, 61 (2018).
- 13) H. Kimura, et al., *Clinical Cancer Research*, **25**(6), 1936-1947 (2019).
- 14) G. Gorji-Bahri, et al., *Current Gene Therapy*, **18**, 336-350 (2018).
- 15) H. Xu, et al., *Anal. Chem.*, **90**(22), 13451-13458 (2018).
- 16) H. Kuroda, et al., *Mol. Pharm.*, **16**, 292-304 (2019).
- 17) J. Jin, et al., *Stem Cell Res. Ther.*, **10**(1), 95 (2019).
- 18) Z. Liu, et al., *Cell Death Discovery*, **5**, 79 (2019).
- 19) G.K. Patel, et al., *Sci. Rep.*, **9**(1), 5335 (2019).
- 20) Y-L. Tai, et al., *J. Biomed. Sci.*, **26**(1), 35 (2019).
- 21) Y. Sugihara, et al., *PLoS One*, **14**(5), e0217394 (2019).
- 22) W. Ando, et al., *Sci. Rep.*, **9**(1), 13595 (2019).
- 23) S. Muraoka, et al., *Front. Neurosci.*, **13**, 1059 (2019).
- 24) K. Yuyama, et al., *Sci. Rep.*, **9**, 16827 (2019).
- 25) L. Sun, et al., *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2019**, 4506303 (2019).
- 26) G. Lou, et al., *J. Exp. & Clin. Cancer Res.*, **39**, 4 (2020).
- 27) C-Y. Liu, et al., *CNS Neurosci. Ther.*, **26**(2), 189-196 (2020).
- 28) S. Muraoka, et al., *Methods*, **177**(1), 35-49 (2020).
- 29) J. Jin, et al., *Biomed. Res. Int.*, **2020**, 2685305 (2020).

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : +81-6-6203-3741
Facsimile : +81-6-6201-5964

<https://labchem-wako.fujifilm.com>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : +1-804-271-7677
Facsimile : +1-804-271-7791

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : +49-2131-311-0
Facsimile : +49-2131-311100

FUJIFILM Wako Chemicals (Hong Kong) Limited

Room 1111 11/F, International Trade Centre, 11-19 Sha Tsui Road,
Tsuen Wan, N.T., Hong Kong
Telephone : +852 2799 9019
wkhk.info@fujifilm.com

FUJIFILM Wako (Guangzhou) Trading Corporation

Room 3003, 30/F, Dong Shan Plaza 69, Xian Lie Zhong Road,
Guangzhou, 510095, China
Telephone : +86 20 8732 6381 (Guangzhou)
Telephone : +86 21 6288 4751 (Shanghai)
Telephone : +86 10 6413 6388 (Beijing)
wkgz.info@fujifilm.com