FUJIFILM



Code No. 052-09301 (50 µ L)

Exosomes, from COLO201 cells, purified (CD63)

This product is highly purified exosomes from COLO201 cells (ATCC $^{\odot}$ CCL-224 $^{\rm TM}$, American Type Culture Collection), which is derived from human colon cancer tissue, by a PS affinity method. The exosome surface markers, CD9, CD63 and CD81 are expressed on these exosomes.

They can be used as positive control on qualitative analysis with Western blotting, ELISA and Flow cytometry. And it is possible to correct the variations in measured values between assays since the measured absorbance of the sample can be converted to the concentration by making the standard curve using this product as a calibrator, when measuring CD63 signals on exosomes using the anti-CD63 antibody, which is a control detection antibody in PS CaptureTM Exosome ELISA Kits (Code No.297-79201 and 298-80601).

[Storage]

Store at -20℃

Store in working aliquots is recommended. For example, store $10\times5\,\mu\mathrm{L}$ aliquots at -20°C and thaw it at room temperature before use. Ten freeze-thaw cycles at -20°C or -80°C did not affect the quality.

[Concentration]

 $10 \,\mu\,\mathrm{g/mL}$

This concentration is a corrected protein concentration value by a CD63 signal so that variations among lots of the quality can be reduced when it is used as a positive control and a calibrator.

[Precaution for use]

This product is derived from COLO201 cells (ATCC® CCL-224TM, American Type Culture Collection). The cells were negative for human immuno-deficiency virus, hepatitis B virus, human papillomavirus, epstein-barr virus and cytomegalovirus test and other adventitious agent were not tested, so handling it as a potentially infectious sample is recommended.

[Procedure]

 $\langle To$ be used as positive control of exosomes of human CD9, CD63 and CD81 \rangle Protocol

Dilute this product appropriate concentration and use as positive control of exosomes for Western Blotting, ELISA and Flow cytometry on qualitative

$\langle To~be~used~as~a~calibrator~for~PS~Capture^{TM}~Exosome~ELISA~Kits \rangle$

This product offers to correct the variations in measured values between assays since the measured absorbance of the sample can be converted to the concentration by making the standard curve using this product as a calibrator, when measuring CD63 signals on exosomes using the anti-CD63 antibody, which is a control detection antibody in PS CaptureTM Exosome ELISA Kits (Code No.297-79201 and 298-80601).

Protocol

Dilute this product to appropriate concentrations with Reaction Buffer in order to make its absorbance value at $450~\rm nm$ (absorbance at $620-650~\rm nm$ is subtracted) for ELISA measurement to be within the optical density range of $0.1~\rm to~3.0~\rm O.D.$

-Usage example-

To make a standard curve of PS Capture $^{\rm TM}$ Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP), produce two-fold dilution series of 7 steps with a starting concentration of 10 ng/mL.

- (1) Add 2 µL of this product to 198 µL of Reaction Buffer, which is provided in the kit, to prepare 100-hold dilution (100 ng/mL).
- (2) According to the following table, prepare subsequent 7-steps of two-fold serial dilutions with Reaction Buffer from 10 ng/mL to 0.15625 ng/mL.

Final Conc. (ng/mL)	Starting Conc. (ng/mL)	Volume to dilute (μ L)	Diluent (µL)
10.0	100	50	450
5.0	10.0	250	250
2.50	5.0	250	250
1.25	2.50	250	250
0.625	1.25	250	250
0.3125	0.625	250	250
0.15625	0.3125	250	250
0.00 (Blank)	_		250

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan Telephone : +81-6-6203-3741 Facsimila : +81-6-8201-5964

http://ffwk.fujifilm.co.jp





— 1/4 —

コード No. 052-09301 (50 µ L)

エクソソーム, COLO201 細胞由来, 精製品 (CD63)

本製品は、ヒト大腸腺癌 COLO201 細胞の培養上清から PS アフィニティー法により精製した高純度なエクソソームです。本精製エクソソームには、エクソソームマーカーである CD9、CD63、CD81 が膜表面に存在し、ウェスタンプロッティング、フローサイトメトリー、ELISA の定性解析におけるヒト CD9、CD63、CD81 陽性コントロールエクソソームとして使用できます。また、PS Capture Exosome ELISA Kit シリーズでキット添付のコントロール検出抗体である抗 CD63 抗体を用いてエクソソームを測定する場合、本製品をキャリプレーターとして用いて検量線を作成することで、検体の測定吸光度を濃度に換算することができ、アッセイ間の測定値のばらつきを補正することができます。

【保存条件】

- 20℃

-20℃および-80℃での凍結融解を 10 回繰り返しても品質に問題ないことを確認していますが、適量に小分けして保管することを推奨します。例:本品を 5μ L×10 本に分注後、-20℃で凍結保存し、使用前に室温で融解する。

【濃度】

 $10 \,\mu\,\mathrm{g/mL}$

本製品の濃度は、ポジティブコントロールおよびキャリブレーターとして使用するにあたり、ロット間差を抑制するために CD63 シグナル値で補正したタンパク質濃度です。

【ご使用の前に】

本品は、COLO201 細胞(ATCC® CCL-224™, American Type Culture Collection)由来のエクソソームです。使用した COLO201 細胞が human immunodeficiency virus、hepatitis B virus、human papillomavirus、epstein-barr virus、cytomegalovirus 陰性であることを確認していますが、その他の病原体検査は行われていません。そのため、本品は感染リスクのある試料としてお取扱い下さい。

【使用方法】

〈ヒト CD9、CD63、CD81 陽性コントロールエクソソームとしての使用方法〉本品を目的の濃度に希釈し、ウェスタンブロッティング、フローサイトメトリー、ELISA の定性解析における陽性コントロールとしてご使用下さい。

《PS Capture[™] Exosome ELISA Kit でのキャリブレーターとしての使用方法》本品は PS Capture[™] Exosome ELISA Kit (Anti-Mouse IgG POD) (Code: 297-79201) および PS Capture[™] Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) (Code: 298-80601) でキット添付のコントロール検出抗体である抗 CD63 抗体を用いてクソソームを測定する場合のキャリブレーターとして使用できます。本製品を用いて検量線を作成することで、検体の測定吸光度を濃度に換算することができ、アッセイ間の測定値のばらつきを補正することができます。

本品を ELISA 測定の 450nm の吸光度値(副波長 $620\sim650$ nm の吸光度を差し引いた値)が $0.1\sim3.0$ の範囲に入る希釈系列となるように、キット指定の希釈バッファーを用いて適切な濃度に希釈して検量線を作成します。

- 使用例 -

PS Capture[™] Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) の標準曲線を作成するために、本品を 10ng/mL から 7 段階の 2 倍希釈系列を調製する。

- 本品2µLとキット付属の Reaction Buffer 198µLを混合し、本品 100 倍希釈液 (100ng/mL) を調製する。
- (2) 下記のような割合で Reaction Buffer と混合し、10ng/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		Reaction Buffer
10.0	100 倍希釈液(100ng/mL)	: 50 μL	$450\mu\mathrm{L}$
5.0	10.0ng/mL の標準溶液	: 250 μL	250 μL
2.50	5.0ng/mL の標準溶液	: 250 μL	$250\mu\mathrm{L}$
1.25	2.50ng/mL の標準溶液	: 250 μL	$250\mu\mathrm{L}$
0.625	1.25ng/mL の標準溶液	: 250 μL	$250\mu\mathrm{L}$
0.3125	0.625ng/mL の標準溶液	: 250 μL	$250\mu\mathrm{L}$
0.15625	0.3125ng/mL の標準溶液	: 250 μL	$250\mu\mathrm{L}$
0.00 (Blank)	-		$250\mu\mathrm{L}$

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号 Tel:06-6203-3741

2510KA3