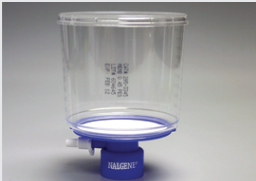

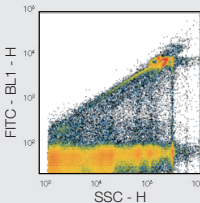
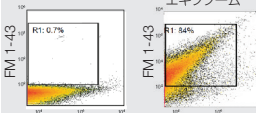


フローサイトメトリーを用いた 細胞外小胞 (EV) 検出ワークフロー

1	2	3	4	5
<p>コンタミネーションの防止</p> <p>測定、サンプル処理に用いるすべての液体をフィルター (0.1 μm 以下) でろ過し、サンプル調製します</p> 	<p>サンプル調製</p> <p>サンプルから細胞デブリを除き、特定のサイズの画分を分離します</p> <p>馴化培地で培養</p> <p>↓ 120,000 x g 4 時間</p> <p>小胞が含まれる上清を回収</p>	<p>EV の標識</p> <p>フローサイトメトリー用抗体または脂溶性色素で EV を標識します</p> <p>すべての抗体と試薬は、自家蛍光が出ないようにタイトレーションして希釈します</p> <p>抗体・試薬の使用後に洗浄はしないでください</p> 	<p>ゲーティング</p> <p>Attune NxT Small Particle Side-Scatter Filter を使用します</p> <p>サイズキャリブレーション用ビーズを使用して、集団を検出します</p> <p>Threshold を設定して、ノイズを低減させます</p>  <p>ポリエステル ApogeeMix シリカビーズを用いて、Attune NxT Small Particle Side-Scatter Filter で単一粒子を解析。データは、サウスアラバマ大学 Mitchell Cancer Institute の Steve McClellan 氏より提供。</p>	<p>解析</p> <p>サンプルを希釈します</p> <p>Attune NxT Flow Cytometer のフローレートを 12.5 または 25 μL/min に設定します</p> <p>≥100 μL のサンプル量で測定します</p> <p>サンプル濃度やフローレートを調整し、イベントレートを 8,000 events/sec 以下にします</p> <p>A 未染色エクソソーム B FM1-43 標識エクソソーム</p>  <p>Small particle SSC Small particle SSC</p> <p>エクソソームを FM 1-43 脂質親和性スチリル色素で染色し、Attune NxT Flow Cytometer で解析したデータ例。(A) 未標識のエクソソーム。(B) 標識後、ポジティブイベントにゲートを設定。データは、サウスアラバマ大学 Mitchell Cancer Institute の Steve McClellan 氏より提供。</p>

Invitrogen™ Attune™ NxT Flow Cytometer と Invitrogen™ 試薬および抗体ポートフォリオを用いてエクソソームを検出する利点として以下が挙げられます：

- **単一粒子の解析** Attune NxT Flow Cytometer に Attune NxT Small Particle Side-Scatter Filter (製品番号 100083194) を搭載することで、バックグラウンドノイズが低減し、100 nm までの EV の識別が可能です。
- **試薬および抗体を用いた迅速なマルチプレックス解析** 蛍光標識された表面タンパク質、膜脂質、細胞エステラーゼ、ならびに細胞表面および細胞内マーカーに対する抗体を用いる同時解析で、EV に関するより多くの情報が得られます。フローサイトメトリー用抗体および試薬は、装置に依存しません。

エクソソームなどの EV 特性解析用抗体および試薬 特異的なターゲット

以下の EV 特異的マーカーは、オリジナルの細胞に特異的なマーカー、あるいは他の試薬と組み合わせる必要があります。

- CD9, CD63, CD81 (エクソソーム表面マーカー)
- PE および APC などのより輝度の高い蛍光色素は、エクソソームあたりの分子数が少ないため、EV 検出用の優れた選択肢となります。タンデム蛍光色素の使用は推奨されていません。
- EV マーカーの詳細については、こちらをご覧ください。

thermofisher.com/flowantibodies

膜染色

蛍光色素は、培養細胞由来のエキソソーム集団を均一に標識するために使用することができます。これらの色素は膜脂質も染色することから、EV のゲーティングと検出に有用です。

細胞内染色

細胞内タンパク質および DNA は、蛍光強度の高い明るい色素で標識できます。当社は、エキソソーム検出用のさまざまな種類の色素を提供しています。

Ordering information

製品名	製品番号
Atune NxT Flow Cytometer 製品	
Attune NxT Small Particle Side-Scatter Filter	100083194
ヒト抗体 (マウス抗体もご提供)	
CD9 Monoclonal Antibody (eBioSN4 (SN4 C3-3A2)), FITC, eBioscience	11-0098-42
CD9 Monoclonal Antibody (eBioSN4 (SN4 C3-3A2)), PE, eBioscience	12-0098-42
CD9 Monoclonal Antibody (eBioSN4 (SN4 C3-3A2)), Super Bright 436, eBioscience	62-0098-42
CD63 Monoclonal Antibody (MEM-259), FITC	MA1-19602
CD63 Monoclonal Antibody (H5C6), PE, eBioscience	12-0639-42
CD63 Monoclonal Antibody (H5C6), PE-Cyanine7, eBioscience	25-0639-42
CD81 Monoclonal Antibody (1D6-CD81), PerCP-eFluor 710, eBioscience	46-0819-42
CD81 Monoclonal Antibody (1D6-CD81), APC, eBioscience	17-0819-42
脂質親和性色素	
Di-8-ANEPPS	D3167
Vybrant Multicolor Cell-Labeling Kit (DiO, DiI, DiD Solutions, 1 mL each)	V22889
FM 1-43 Dye (<i>N</i> -(3-Triethylammoniumpropyl)-4-(4-(Dibutylamino) Styryl) Pyridinium Dibromide)	T3163
細胞内染色色素	
CellTrace Blue Cell Proliferation Kit, for flow cytometry	C34568
CellTrace CFSE Cell Proliferation Kit, for flow cytometry	C34570
CellTrace Far Red Cell Proliferation Kit, for flow cytometry	C34564
CellTrace Violet Cell Proliferation Kit, for flow cytometry	C34557
CellTrace Yellow Cell Proliferation Kit, for flow cytometry	C34567
サポート製品	
Fetal Bovine Serum, exosome-depleted	A2720801
Fetal Bovine Serum, exosome-depleted, One Shot format	A2720803

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/extracellularvesicles

研究用のみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用はできません。
 記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。
 For Research Use only. Not for use in diagnostic procedures. © 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
 All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.
 ApogeeMix is a trademark of Apogee Flow Systems. Super Bright Polymer Dyes are sold under license from Becton, Dickinson and Company.
 実際の販売価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。
 価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
 標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc

販売店

FPL059-A20060B

サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ jptech@thermofisher.com
 オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584
 営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://www.facebook.com/ThermoFisherJapan)

[@ThermoFisherJP](https://twitter.com/ThermoFisherJP)

thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC