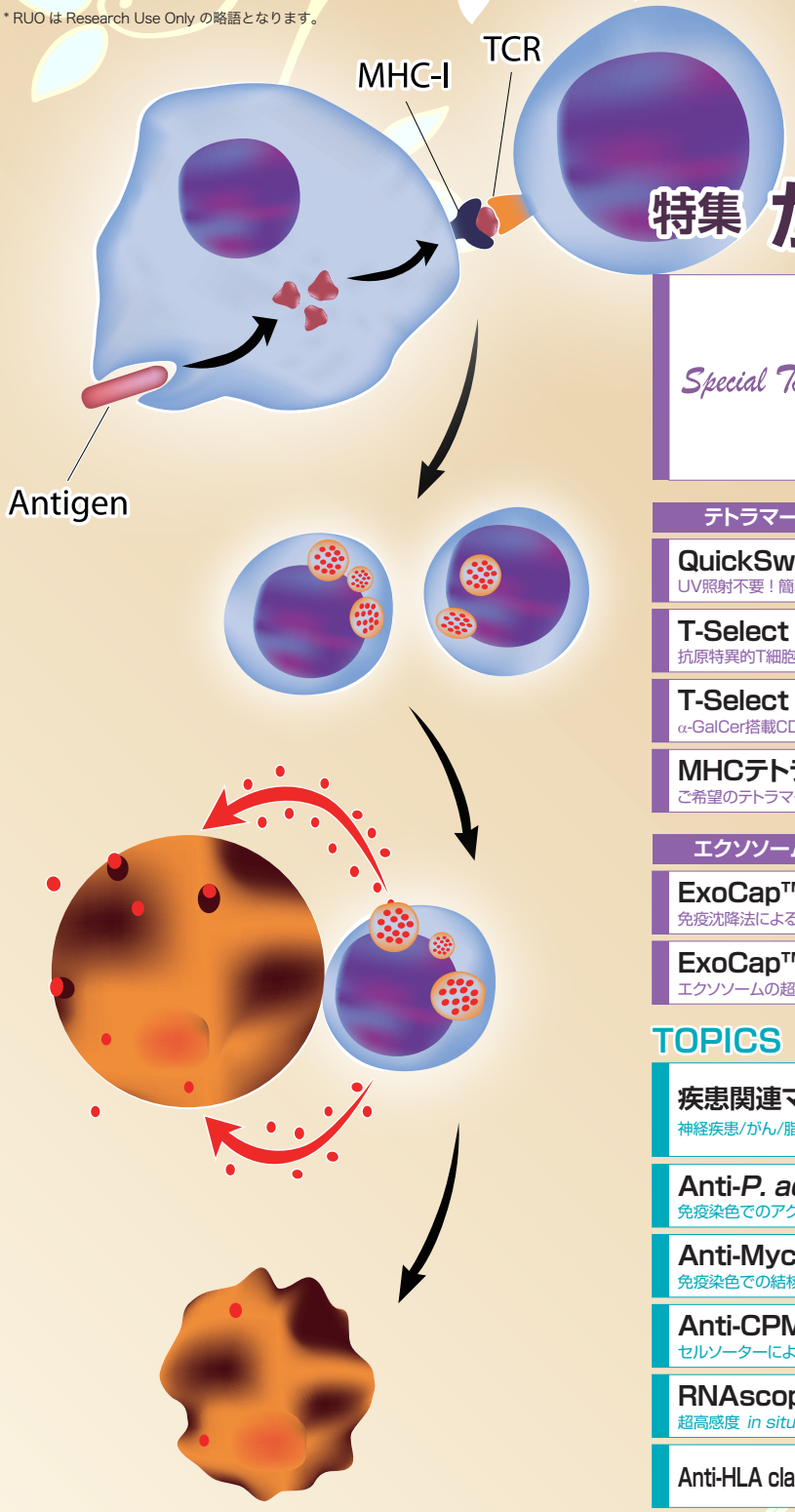
MBL RUO TOPICS

MBL
A JSR Life Sciences Company

研究用

vol.38
Sep. 2018

* RUO は Research Use Only の略語となります。



特集 がん免疫

Special Talk
QuickSwitch™ カスタム テトラマーキットを用いたネオアンチゲン反応性T細胞の解析
東京大学医学部付属病院 免疫細胞治療学講座
小林 由香利 先生 / 細井 亮宏 先生
木村 真之介 先生 / 垣見 和宏 先生 p.2

テトラマー

QuickSwitch™ カスタム テトラマーキット
UV照射不要！簡単！ p.6

T-Select MHC Tetramer
抗原特異的T細胞を特異的に検出できます p7

T-Select CD1d Tetramer NEW
α-GalCer搭載CD1d Tetramer新発売！ p8

MHCテトラマー カスタム作製 受託
ご希望のテトラマーをカスタム作製できます p9

エクソソーム

ExoCap™ Streptavidin CD9/CD63/CD81 Set
免疫沈降法によるヒト由来サンプルからのエクソソームの単離･解析用セット p.10

ExoCap™ Ultracentrifugation/Storage Booster
エクソソームの超遠心分離･保存用試薬 p.11

TOPICS

疾患関連マーカー ELISAキット NEW
神経疾患/がん/脂質代謝/発生･神経栄養因子
S100B, Human Fibulin-3/EFEMP1, Human FABP4/A-FABP, S100G/CaBP9K p.12

Anti-*P. acnes* mAb (PAB抗体) NEW
免疫染色でのアクネ菌の検出に！ p.13

Anti-Mycobacteria mAb (LAM抗体) NEW
免疫染色での結核菌の検出に！ p.13

Anti-CPM mAb NEW
セルソーターによるヒトCPM 陽性細胞の分離に！ p.13

RNAscope® / BaseScope™
超高感度 *in situ* ハイブリダイゼーションシステム p.14

Anti-HLA class I (HLA-A,B,C) (Human) mAb (clone EMR8-5.1) NEW p.16

QuickSwitch™ カスタム テトラマーキットを用いたネオアンチゲン反応性T細胞の解析

小林 由香利 先生　細井 亮宏 先生　木村 真之介 先生　垣見 和宏 先生

東京大学医学部附属病院　免疫細胞治療学講座

■ネオアンチゲン

抗PD-1/PD-L1抗体などの免疫チェックポイント阻害剤の登場により、がん免疫治療が注目されている。免疫チェックポイント阻害剤の作用機序は、腫瘍内で抑制されていた内在性の抗腫瘍免疫の再活性化であり、その中心を担うのが、腫瘍特異的T細胞である[1]。免疫チェックポイント阻害剤によって再活性化された腫瘍特異的T細胞が認識するがん抗原は、がん細胞の遺伝子変異産物に由来するネオアンチゲンであることが明らかになったことから、腫瘍特異的T細胞とネオアンチゲンの研究に高い関心が寄せられている[2]。

細胞内のタンパク質は、9〜11アミノ酸からなるペプチドに分解された後、MHCクラスI分子のポケット状の構造に結合して細胞表面に提示されている[3]。このペプチド/MHC複合体がT細胞受容体(TCR)によって認識される。通常、T細胞は胸腺でのネガティブセレクションで免疫寛容が誘導されることで自己免疫反応が抑制されるため、正常細胞に発現するタンパク質に対しては免疫反応が起こらない。一方、がん細胞はそのがん化の過程で多くの体細胞遺伝子突然変異(somatic mutation)を蓄積しており、正常細胞に存在しないアミノ酸変異を伴うタンパク質を発現している。そのような変異を含んだタンパク質は、もともと体内に存在しない抗原であることから“ネオ”アンチゲンと呼ばれている。このネオアンチゲンには、胸腺での免疫寛容の誘導がないため、強いT細胞免疫応答が期待できる（免疫原性が高い）。また、変異アミノ酸を含み、MHCクラスI分子に結合してT細胞に認識されるペプチドをネオエピトープと呼ぶ（図1）[4]。

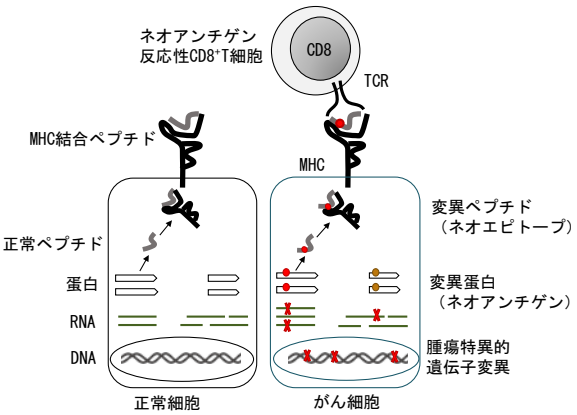


図 1. 腫瘍特異的遺伝子変異産物に由来するネオアンチゲン

■次世代シーケンサーを用いたネオアンチゲンの予測

がん細胞に認められる遺伝子変異には、がん化や細胞増殖に直接関わるドライバー変異と、それに関係がないと思われるパッセンジャー変異が含まれる。分子標的薬の開発のためには、ドライバー変異の同定が重要であるが、腫瘍免疫の標的抗原分子としては、ドライバー変異もパッセンジャー変異も区別なくアミノ酸変異を伴えばネオアンチゲンとなり得る。しかしながら、ある一定の割合で複数の患者において共通に認められるドライバー変異と異なり、多くのパッセンジャー変異は個々の患者に固有の変異であるため、これまで薬剤の開発の対象とならなかった。

次世代シーケンサー(NGS)の登場によって個人レベルでのゲノムが解読可能となったことから、手術や生検で得られた患者毎の組織からDNAとRNAを抽出して、エクソームと

トランスクリプトームを解析し、それをもとにネオアンチゲンの予測が可能になった[5]。ネオアンチゲンの同定アルゴリズムは、決して特別なものではない。これまでの分子生物学、免疫学の知見に基づき、分子標的薬の標的分子となるドライバー変異を同定するパイプラインと、ペプチドがんワクチンの開発パイプラインを組み合わせてネオアンチゲン/ネオエピトープの予測アルゴリズムが構成されている[6]。アミノ酸変異を伴う遺伝子変異産物のうち、患者の持つMHCと結合能が高いと期待される9〜11アミノ酸配列からなるペプチドがネオエピトープの候補としてリストアップされる。

■ネオアンチゲン反応性T細胞のスクリーニング

現状では、ネオアンチゲンの予測はあくまでも予測に過ぎず、実際に患者の体内に変異ペプチドに反応するリンパ球が存在するか否か？存在してもそれが腫瘍特異的免疫応答にどの程度貢献しているか？また、それを治療にどのように結びつけることが可能か、に関して多くの解決すべき課題が残されている。食道がん患者のNGSデータから得られたネオエピトープのリストから、実際に患者の末梢血単核球(PBMC)が反応したネオエピトープペプチドを同定した1例を紹介する。

食道がん患者の全エクソンシーケンスと全RNAシーケンスを実施した。腫瘍特異的な体細胞遺伝子変異を209個認め、そのうち発現を認めたもの43個について、患者が持つHLA-A*02:06, HLA-A*11:01, HLA-B*52:01, HLA-B*54:01, HLA-C*01:02, HLA-C*12:02に対する結合予測値をもとに54個のネオエピトープペプチドを合成した。患者から得たPBMCとペプチドパネルを共培養しIFN-γの産生をELISAでスクリーニングした（図3）。患者PBMCは、NFATC2IP遺伝子の283番目のアミノ酸のセリンがロイシンに変異したRLPLRM[L]EPLに反応してIFN-γを産生した。このペプチドはHLA-A*02:06に対する結合予測値(IC50)は163.8 nM、変異のないRLPLRM[S]EPLペプチドのIC50は、894.2 nMであった。

■QuickSwitch™ カスタム テトラマーによるネオアンチゲン反応性T細胞の検出

患者末梢血中にネオアンチゲン反応性T細胞が存在することを検証するため、患者のPBMCを、ネオエピトープペプチドをパルスした患者の樹状細胞(DC)とともに24日間培養し、ネオアンチゲン反応性T細胞を選択的に増殖させた後、テトラマー染色を試みた。QuickSwitch™ カスタム テトラマーキット（MBL）と合成したペプチドを用いて、研究室内でペプチド交換反応を行い、ネオエピトープペプチドとコントロールとなるWild typeテトラマーを調製した。ペプチド交換効率は、変異ペプチドとコントロールのWild typeペプチドそれぞれ98.6%と96.7%であった（図4）。

これらのテトラマーを用いて培養後の患者PBMCをCD8、CD3、Fixable Viability Dye eFluor™ 780、テトラマーで染色したところ、CD3陽性細胞中0.8%の細胞がテトラマー陽性を示し、患者末梢血中にネオアンチゲンに反応するT細胞が存在することが証明された（図5）。

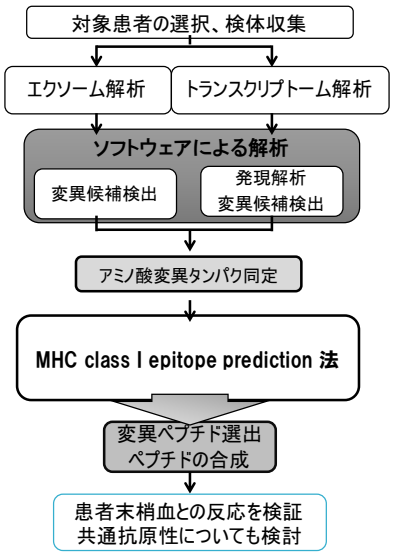


図 2. ネオアンチゲン予測アルゴリズム

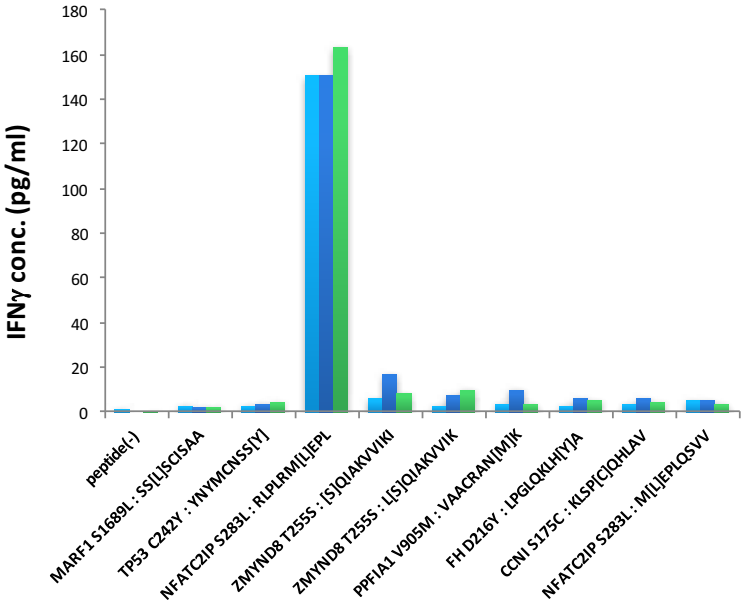
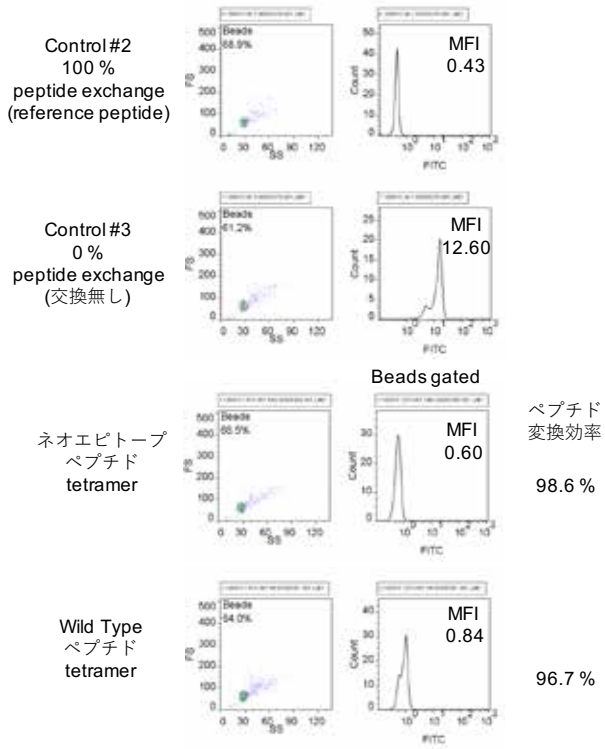
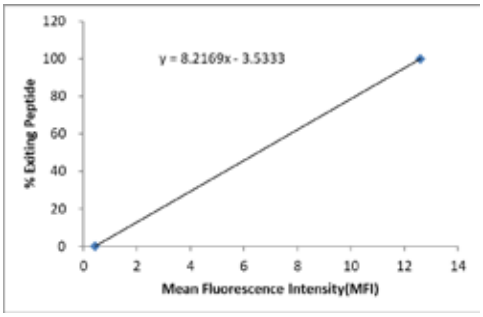


図 3. ネオエピトープペプチドのパネルを用いたスクリーニング
IFN-γ の産生を ELISA で測定した。





Analyzed sample	MFI (X)	% of Exiting peptide (Y)	% Peptide Exchange (100−Y)
Control #2	0.43	0.0	100.0
Control #3	12.60	100.0	0.0
ネオエピトープペプチド	0.60	1.4	98.6
Wild Type ペプチド	0.84	3.3	96.7

図 4. QuickSwitch™ カスタム テトラマーキットによるネオアンチゲン特異的テトラマーの調製とペプチド交換効率の確認

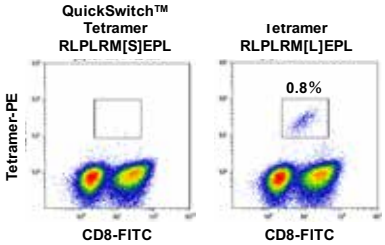
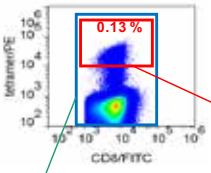


図 5. がん患者末梢血中のネオアンチゲン特異的 T 細胞の検出



ソート前

Rank	TRBV	TRBJ	CDR3	Frequency (%)
1	TRBV7-9	TRBJ2-1	CASEASGRPPAGLPPRYNEQF	4.373765179
2	TRBV7-9	TRBJ1-1	CASSFSLSEAFF	3.517992319
3	TRBV29-1	TRBJ2-3	CSAATGLFRADTQYF	1.777032877
4	TRBV9	TRBJ2-1	CASSSTSGRAGGEQFF	1.617754789
5	TRBV7-9	TRBJ1-5	CASSWGTGYQPQHF	1.418518436
6	TRBV13	TRBJ1-1	CASSFSATEAFF	1.154349901
7	TRBV29-1	TRBJ2-5	CSVTSTVGETQYF	1.090527671
8	TRBV7-8	TRBJ2-7	CASSPGRGGSYEQYF	1.038359935
9	TRBV28	TRBJ2-1	CASSPPDGTGYNEQFF	1.001176549
10	TRBV30	TRBJ2-3	CACLRRGADTQYF	0.717583857
⋮				
111	TRBV7-9	TRBJ2-3	CASFSPGGPDTQYF	0.077696628
⋮				
203	TRBV12-4	TRBJ2-2	CGVRGAGTGELFF	0.047172953
⋮				
428	TRBV7-9	TRBJ2-2	CASSRDYSTGELFF	0.031633627
⋮				
609	TRBV11-3	TRBJ2-7	CASSLRGQGASHEQYF	0.02441894
⋮				
15022	TRBV7-9	TRBJ2-2	CASSRDYSTWELFF	0

Tetramerソーティング後

Rank	TRBV	TRBJ	CDR3	Frequency(%)
1	TRBV7-9	TRBJ2-2	CASSRDYSTGELFF	36.59201068
2	TRBV11-3	TRBJ2-7	CASSLRGQGASHEQYF	22.38640218
3	TRBV7-9	TRBJ2-3	CASFSPGGPDTQYF	18.89175794
4	TRBV12-4	TRBJ2-2	CGVRGAGTGELFF	12.31659682
5	TRBV7-9	TRBJ2-2	CASSRDYSTWELFF	4.845345033
6	TRBV11-3	TRBJ2-2	CASSRDYSTGELFF	0.132389466
7	TRBV7-9	TRBJ2-7	CASSLRGQGASHEQYF	0.124730571
8	TRBV11-3	TRBJ2-7	CASSLRGQGASNEQYF	0.091359673
9	TRBV11-3	TRBJ2-3	CASFSPGGPDTQYF	0.063459413
10	TRBV7-9	TRBJ2-2	CVSSRDYSTGELFF	0.062365286
11	TRBV7-9	TRBJ2-2	CANSRDYSTGELFF	0.061818222
12	TRBV7-9	TRBJ2-2	CASSRDYSAGELFF	0.053612263
13	TRBV12-4	TRBJ2-2	CGVRGTGTGELFF	0.050876943
14	TRBV7-9	TRBJ2-3	CASLSPGGPDTQYF	0.05032988
15	TRBV7-9	TRBJ2-2	CASSRDYSTRELFF	0.049782816

図 6. テトラマーソーティングによるネオアンチゲン特異的 T 細胞の濃縮

■ネオアンチゲン反応性T細胞のクロナリティ

HLA-A*02陽性の食道がん患者で同定されたDHX57遺伝子1049番目のアミノ酸アルギニンがシステインに変異したSIF[C]CLDPAネオエピトープに反応するT細胞をHLA-A*02が一致する健常人ドナーのPBMCから培養した。健常人においてネオアンチゲン反応性T細胞の頻度は非常に低いため、ペプチド刺激を2回実施して増幅させたのち、テトラマーで検出した。検出には、ペプチド交換法でネオエピトープペプチドを結合させたQuickSwitch™ カスタム テトラマーを用いた。培養細胞中のCD8陽性T細胞中の0.13%が

テトラマー陽性であった。ネオアンチゲン反応性T細胞のクロナリティを評価するために、セルソーターを用いてテトラマー陽性細胞を分離した。RNA抽出後cDNAを調製し、TCR遺伝子を増幅させ、NGSを用いてCDR3領域遺伝子配列を解析した。TCRβ鎖のCDR3配列から、このドナーから得られたネオアンチゲン反応性T細胞は単一ではなく、少数のクローン(オリゴクローン)で構成されていることが明らかになった(図6)。

NGSを用いたTCR遺伝子解析法を用いても、末梢血中のネオアンチゲン反応性T細胞は検出感度以下であり、ペプチド培養刺激後でも、各クローンの頻度は0.1%に満たないほどわずかであった。テトラマー染色法を活用することで、このような希少なネオアンチゲン反応性T細胞を容易に濃縮し解析することが可能になった(図7)。

■QuickSwitch™ カスタム テトラマーの有用性

ネオアンチゲン研究の厄介なところは、腫瘍には、複数の遺伝子変異が存在すること、個々の患者によってその遺伝子変異が異なること、そしてすべての変異遺伝子産物がネオアンチゲンになるわけではなく、患者のHLAによって結合し提示されるペプチドが異なることから、個々の患者毎に複数の固有のネオエピトープペプチドが候補になり、その検証が求められることである。

ペプチド/MHC複合体の4量体を用いて抗原特異的T細胞を検出するテトラマー技術は、抗原特異的T細胞を直接検出可能にした革新的な技術であったが、ペプチドとMHCクラスI分子、β2マイクログロブリンの3つの分子を適切にリフォールディングさせて会合させることは容易ではないため、最適化した条件下で既知のエピトープペプチドを用いて調製されたテトラマーのみ提供されていた。ウイルスや既知のがん抗原に由来するエピトープに対するテトラマーは入手可能であったが、個々の患者のネオアンチゲンのように、未知のエピトープペプチドに対するテトラマーの調製は困難であった。

QuickSwitch™ カスタム テトラマーは、MHCペプチド複合体の構造を維持するためにあらかじめExitingペプチドを用いて適切な立体構造を保ったテトラマーが提供される。

目的のネオエピトープペプチドを加えて、Peptide Exchange Factorを添加すると、化学反応によりExiting peptideと目的のペプチドの交換反応が起こり、ネオエピトープペプチドに置き換わったテトラマーが調製される。これにより同時に複数のネオエピトープペプチドに対するテトラマーの調製が可能になり、ハイスループットのネオアンチゲン反応性T細胞の検出系の構築が可能になる。QuickSwitch™ カスタム テトラマーは、今後ネオアンチゲンの研究には不可欠のツールとして、広く活用されると期待される。

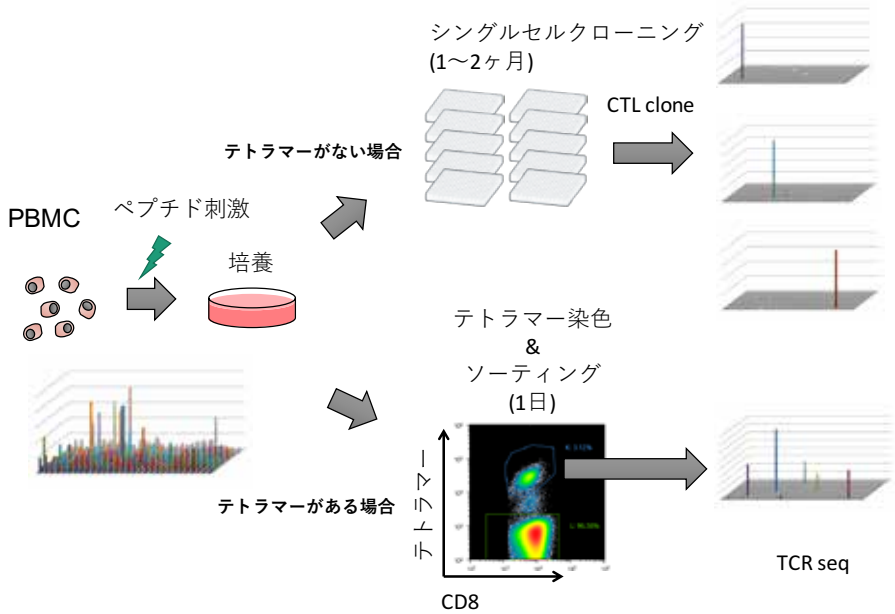


図 7. テトラマーを活用したネオアンチゲン特異的 T 細胞の同定と TCR 解析

●参考文献

1) Zappasodi R, Merghoub T, Wolchok JD. Emerging Concepts for Immune Checkpoint Blockade-Based Combination Therapies. Cancer cell. 2018;33(4):581-98.
2) Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. Science (New York, NY). 2015;348(6230):69-74
3) Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of antigen processing. Annual review of immunology. 2013;31:443-73.
4) Tureci O, Vormehr M, Diken M, Kreiter S, Huber C, Sahin U. Targeting the Heterogeneity of Cancer with Individualized Neoepitope Vaccines. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2016;22(8):1885-96.
5) Hackl H, Charoentong P, Finotello F, Trajanoski Z. Computational genomics tools for dissecting tumour-immune cell interactions. Nature reviews Genetics. 2016;17(8):441-58.
6) Karasaki T, Nagayama K, Kawashima M, Hiyama N, Murayama T, Kuwano H, et al. Identification of Individual Cancer-Specific Somatic Mutations for Neoantigen-Based Immunotherapy of Lung Cancer. Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer. 2015.

売れています！ 特におすすめ ネオアンチゲン研究に

UV照射不要！簡単！

QuickSwitch™ カスタム テトラマーキット

遺伝子・プロテオーム解析から予測された
ネオアンチゲン・ネオエピトープの検証ツール

日本人の高頻度Allele
A*24:02
A*02:01
ラインナップ！

特徴

- 反応時間　4 時間！
- UV ランプなど、特殊な装置は不要
- ペプチド交換効率も評価可能（Quant Kit シリーズ）

ペプチド交換反応の原理

キットに含まれるテトラマー分子には構造を維持するためにExiting peptideが結合しています（図中青色）。目的のペプチド（図中赤色）を加え、Peptide Exchange Factorを添加すると、Exiting peptideとの交換反応が始まります（反応時間は約4時間）。

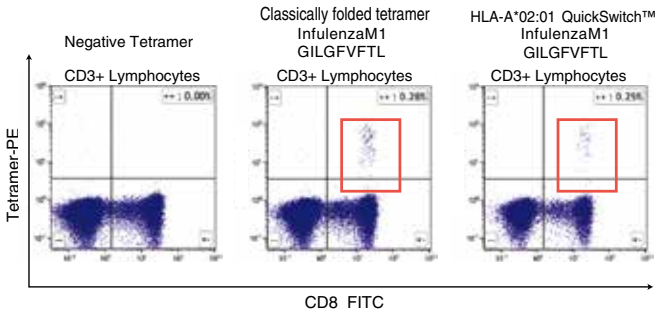
ペプチドが交換される比率については目的のペプチド配列に依存し、QuickSwitch™ Quant tetramer Kitにはペプチド交換効率を調べる試薬が入っています。

※詳細はライフサイエンスサイト製品ピックアップ情報をご覧ください。

QuickSwitch™ Tetramer Kit を使用したテトラマー作製と染色例

■HLA-A*02:01 Influenza M1 (GILGFVFTL)の染色例

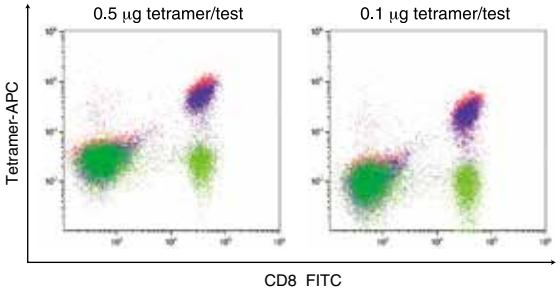
ヒトPBMCを使用し、QuickSwitch™ Tetramer Kitで作製したテトラマーとMBL同等製品を比較しました。（図中右上の数値はCD8陽性細胞中のテトラマー陽性細胞率（%）を示します。）
Influenza M1 (GILGFVFTL)におけるペプチド交換効率は、89%でした。



■H-2Kb OVA (SIINFEKL)の染色例

OT-I TCRトランスジェニックマウスから脾臓を摘出し、1.2×10^5 cell/testあたり0.5 μg、0.1 μgのテトラマー試薬を反応させました。

緑色：H-2Kb TRP2 Tetramer (negative control)
赤色：H-2Kb OVA SIINFEKL Tetramer (QuickSwitch™ Tetramer Kit使用)
青色：H-2Kb OVA SIINFEKL Tetramer (MBL同等テトラマー製品)



製品名	Code No.			ペプチド交換効率測定の有無	価格（税別）
	PE標識	APC標識	BV421標識		
QuickSwitch™ Quant HLA-A*02:01 Tetramer Kit	TB-7300-K1	TB-7300-K2	TB-7300-K4	○	¥157,000
QuickSwitch™ HLA-A*02:01 Tetramer Kit	TB-7301-K1	TB-7301-K2	TB-7301-K4	×	¥141,000
QuickSwitch™ Quant HLA-A*24:02 Tetramer Kit	TB-7302-K1	TB-7302-K2	TB-7302-K4	○	¥157,000
QuickSwitch™ HLA-A*24:02 Tetramer Kit	TB-7303-K1	TB-7303-K2	TB-7303-K4	×	¥141,000
QuickSwitch™ Quant H-2Kb Tetramer Kit	TB-7400-K1	TB-7400-K2	TB-7400-K4	○	¥157,000
QuickSwitch™ H-2Kb Tetramer Kit	TB-7401-K1	TB-7401-K2	TB-7401-K4	×	¥141,000

詳しくはこちら
Web ページ ID【1041】

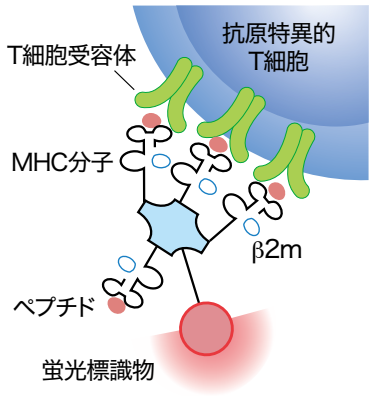
抗原特異的 T 細胞を特異的に検出できます

T-Select MHC Tetramer

MHC Tetramerによる抗原特異的T細胞の検出原理

T 細胞受容体（TCR）は、抗原提示細胞（APC）に発現する MHC 分子と、APC 内でプロセスされた特定のペプチド配列からなる複合体(MHC-peptide Complex) を認識して特異的に結合することで、T 細胞を活性化させることが知られています。この原理を利用して、MHC-peptide Complex を用いた抗原特異的 T 細胞の検出が可能であると考えられました。しかし、MHC-peptide Complex は、単量体（モノマー）の状態では TCR に対する親和性が低く、両者の結合が不安定であるため、そのままでは検出ツールとしての応用は困難でした。そこで、MHC peptide Complex をビオチン化し、ストレプトアビジンによりこれを 4 量体（テトラマー）化することで、TCR との安定的な結合状態を維持させることで検出ツールとしての応用が可能になりました。

T-Select MHC Tetramer は、FITC、PE あるいは APC などの蛍光物質で標識されているため、フローサイトメーターや蛍光顕微鏡を用いて、抗原特異的 T 細胞の検出が可能です。



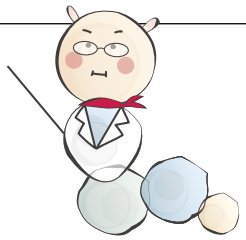
MHCテトラマー製品

- **Human Class I**
  がん関連、ウイルス・バクテリアなど
- **Mouse Class I**
  がん関連、ウイルス・モデル抗原など
- **Human Class II**
  ウイルスなど
- **Mouse Class II**
  モデル抗原MOG、OVAなど
- **CD1d**
  ヒト、マウス
- **HLA-E**
- **その他動物 Class I**
  アカゲザル、ニワトリなど

MHCカスタムテトラマー

ご希望のアリル※とペプチドを用いて
MHCテトラマーを作製いたします

- **Class I custom Tetramer**
  ヒト、マウス、サル、ニワトリ
- **Class II custom Tetramer**
  ヒト、マウス（要相談）



テトラマー製品の検索の仕方

MBLライフサイエンスTOPページより、簡単に検索できます

MBL　ライフサイエンス　検索

方法1　検索キーワードで探す

ご希望のペプチド配列が分かっていれば、検索キーワードにそのままペプチド配列をペーストして検索すると一番簡単です。

方法2　[テトラマーを探す]をクリック

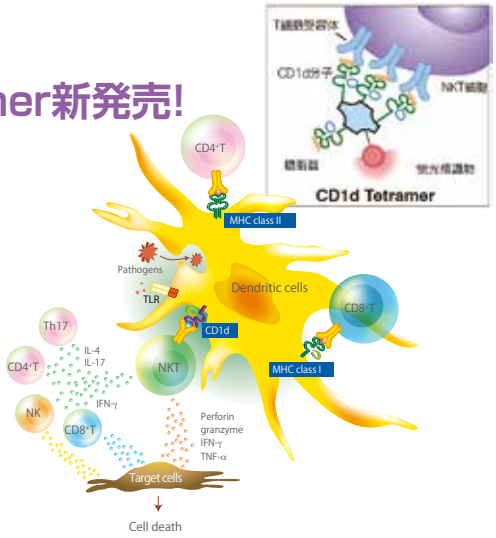
より詳細な検索が可能です。例えば、ヒトHLA-A*24:02でがん関連のテトラマーを調べたいなど、様々なカテゴリーでの検索が可能です。

新発売

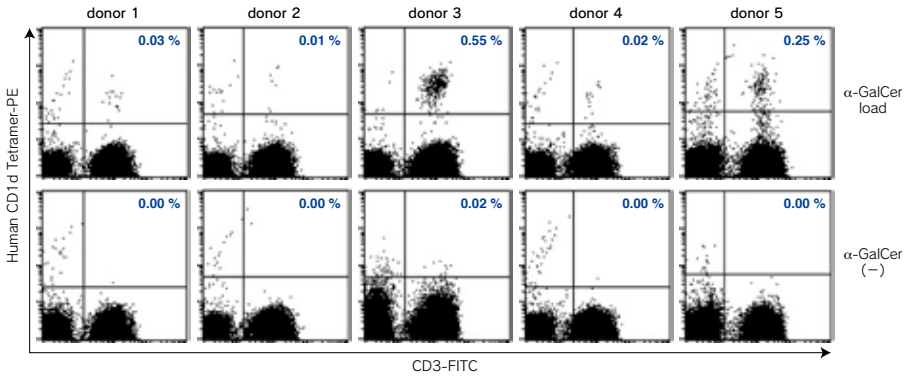
お待たせしました! α-GalCer搭載CD1d Tetramer新発売!

T-Select CD1d Tetramer

CD1d分子は、β2-microglobulin (β2m) と非共有結合した膜タンパク質で、ヒト、マウス間でホモロジーが非常に高いことが知られています。CD1d分子は、糖脂質抗原を提示することでCD1d拘束性のNKT細胞を活性化することが報告されています。実験的には、CD1d分子に提示される物質として、海綿から抽出・分離された糖脂質であるα-galactosylceramide (α-GalCer) がよく用いられます。CD1d Tetramer は、CD1dとβ2mの複合体を PE または APC標識されたストレプトアビジンにより 4 量体化した試薬です。本試薬にα-GalCerを結合させることで、CD1d拘束性のNKT細胞をフローサイトメトリーにより高感度に検出できます。NKT細胞関連抗体と組み合わせることで、より簡便にNKT細胞の機能解析を行うことができます。

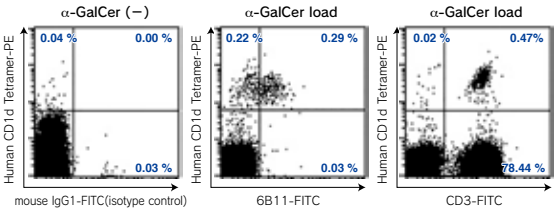


Human CD1d Tetramer を用いた NKT 細胞の検出



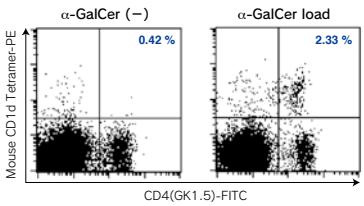
健常人末梢血より PBMC を分離し、10 μL のClear Back (Human Fc receptor blocking reagent, Code No. MTG-001) を加えて室温で5分間インキュベーションしました。これにCD3-FITCとHuman CD1d Tetramer-PE (α-GalCer 結合なし、α-GalCer 結合あり) を加え、4℃暗所にて30分静置しました。フローサイトメトリーで測定したところ、CD3 陽性細胞中に0.01-0.55 % の NKT細胞を検出できました。

Human CD1d Tetramer と anti-human TCR Vα24-Jα18(clone 6B11) 抗体の検出感度比較



健常人末梢血よりPBMCを分離し、10 μLのClear Back (Human Fc receptor blocking reagent, MBL Code No. MTG-001) を加えて室温で5分間インキュベーションしました。これに、Human CD1d Tetramer-PE (α-GalCer結合なし、α-GalCer結合あり)と、anti-human TCR Vα24-Jα18 (clone 6B11) -FITC、mouse IgG1-FITC (isotype control) またはCD3-FITCを加え4℃暗所にて30分静置しました。フローサイトメトリーで測定したところ、全体の細胞数に対して、CD1d Tetramerでは 0.47%、anti-human TCR Vα24-Jα18 (clone 6B11) では 0.29%のNKT細胞が検出されました。

Mouse CD1d Tetramer を用いた NKT 細胞の検出



C57BL/6マウス脾臓細胞を調製し、CD4-FITCとMouse CD1d Tetramer-PE (α-GalCer結合なし、α-GalCer結合あり) を加え、4℃暗所にて30分静置しました。フローサイトメトリーで測定したところ、全体の2.33%のNKT細胞を検出できました。

■α-GalCer搭載CD1d Tetramer 製品リスト

	Code No.	製品名	包装	価格（税別）
NEW!	TS-HCG-1	Human CD1d Tetramer (α-GalCer loaded)-PE	50 tests	¥118,000
NEW!	TS-HCG-2	Human CD1d Tetramer (α-GalCer loaded)-APC	50 tests	¥118,000
NEW!	TS-MCG-1	Mouse CD1d Tetramer (α-GalCer loaded)-PE	50 tests	¥170,000
NEW!	TS-MCG-2	Mouse CD1d Tetramer (α-GalCer loaded)-APC	50 tests	¥170,000

■α-GalCer非搭載CD1d Tetramer 製品リスト

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
TS-HCD-1	T-Select Human CD1d Tetramer-PE	50 tests	¥98,000
TS-HCD-2	T-Select Human CD1d Tetramer-APC	50 tests	¥98,000
TS-MCD-1	T-Select Mouse CD1d Tetramer -PE	50 tests	¥145,000
TS-MCD-2	T-Select Mouse CD1d Tetramer -APC	50 tests	¥145,000

受託 特におすすめ 目的とするアリル、ペプチド配列のテトラマー製品が見つからない方に

ご希望のテトラマーをカスタム作製できます

MHC class Ⅰ custom Tetramer

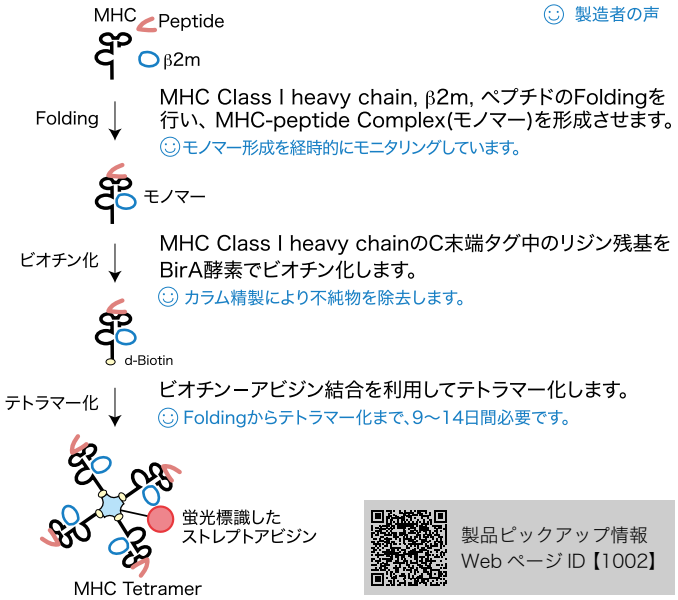
弊社にて対応可能なアリルとご希望の配列のペプチドを用いてMHC class Ⅰ Tetramerを作製するサービスです。
詳細は下記「対応可能なアリル」をご参照ください。

■ 対応可能なアリル

HLA-A	HLA-B	HLA-C	Mouse	Chicken
A*01:01	B*07:02	Cw*01:02	H-2K^b	BF2*1201
A*02:01	B*08:01	Cw*03:03	H-2K^d	BF2*1501
A*02:06	B*15:01	Cw*03:04	H-2D^b	
A*02:07	B*15:02	Cw*08:01	H-2D^d	**Rhesus Macaque**
A*03:01	B*27:05	Cw*12:02	H-2D^k	Mamu-A*90120-4
A*11:01	B*35:01	Cw*15:02	H-2L^d	Mamu-A*90120-5
A*23:01	B*40:01		H-2K^k	Mamu-A*01
A*24:02	B*40:06	**HLA-E**	A2K^b(キメラ)	**Macaca Fascicularis**
A*26:01	B*42:01	E*01:01	A24K^b(キメラ)	Mafa-A1*063
A*29:02	B*52:01	E*01:03	Qa-1b	Mafa-B*104:01
A*31:01	B*54:01			
	B*57:01			

青字のアリルは海外(BION社:アメリカ)での製造となります。
納期についてはお問い合わせください。

■ 作業のながれ



製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1002】

MHC class Ⅱ custom Tetramer

■対応可能なアリル

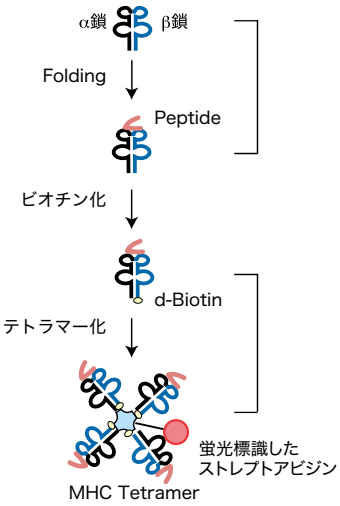
Human Class II

DRB1*01:01	DRB1*11:01
DRB1*03:01	DRB1*12:02
DRB1*04:01	DRB1*14:01
DRB1*04:10	DRB1*14:06
DRB1*04:05	DRB1*15:01
DRB1*07:01	DRB1*15:02
DRB1*08:02	DRB4*01:01
DRB1*08:03	DPB1*04:01
DRB1*09:01	

Mouse Class II
お問合せください

青字のアリルは海外（BION社：アメリカ）での製造となります。
納期についてはお問い合わせください。

■作業のながれ



製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1001】

カスタム作製料金

サービス	容量	価格（税別）
MHC class Ⅰ custom Tetramer	50 tests	¥400,000
	100 tests	¥550,000
	150 tests	¥700,000
Human HLA class Ⅱ custom Tetramer	50 tests	¥720,000

こちらの価格にはペプチド合成費用が含まれています。

注目！ 使用文献あり エクソソーム >> キット

用途に応じたエクソソームの単離・解析に!
エクソソーム単離用試薬

エクソソーム(Exosome)とは?

エクソソームは、細胞内の小胞輸送を介してMultivesicular body(MVB)から細胞外に放出される直径30～100 nmほどの細胞外小胞(Extracellular vesicle; EV)の一種です。エクソソームの膜表面上にはテトラスパニン(Tetraspanin)と呼ばれる4回膜貫通タンパク質が多く発現しており、CD9やCD63といった分子が一般的なエクソソームのマーカーとして知られています。また、内部にはタンパク質、脂質、miRNAなどの核酸が含まれています。エクソソームは、細胞外に分泌された後、血液や尿、唾液などの体液を介して隣接もしくは離れた組織に取り込まれ、細胞間情報伝達の担い手として機能することが示唆されています。現在、癌などをはじめとする様々な疾患において、エクソソーム由来の分子を用いた診断薬の開発や創薬ターゲットとしての可能性、ドラッグデリバリーシステムのツールとしての利用など、エクソソームに焦点を当てた様々な研究が行われています。

エクソソームの単離方法

	超遠心分離法	ポリマー沈殿法	免疫沈降法
利点	・大量調製が可能 ・表面抗原のプロファイルによるバイアスがかからない ・低コスト	・操作が短時間かつ簡単 ・表面抗原のプロファイルによるバイアスがかからない	・操作が簡単 ・特定マーカーを有するエクソソームを高純度かつ高回収率で得ることができる
欠点	・操作が長時間かつ煩雑 ・回収率が低い ・装置が高額	・夾雑物が多く純度が低い ・回収後のエクソソームの再溶解が困難	・表面抗原のプロファイルによるバイアスがかかる ・大量調製に不向き
使用例	・網羅的な解析	・疾患などに特異的なエクソソームの解析	・網羅的な解析

売れています！ 特におすすめ 特定の分子を発現するエクソソームを解析したい方

免疫沈降法によるヒト由来サンプルからのエクソソームの単離・解析用セット
ExoCap™ Streptavidin CD9/CD63/CD81 Set

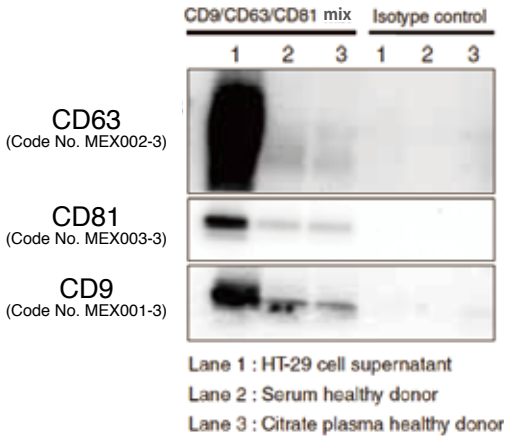
特徴

- エクソソーム捕捉用抗体、ビーズ、各種バッファーが付いたセット品ですぐに実験を始められます。
- 単離したエクソソームは WB、qRT-PCR、CLEIA、ELISA、FCM に使用できます。

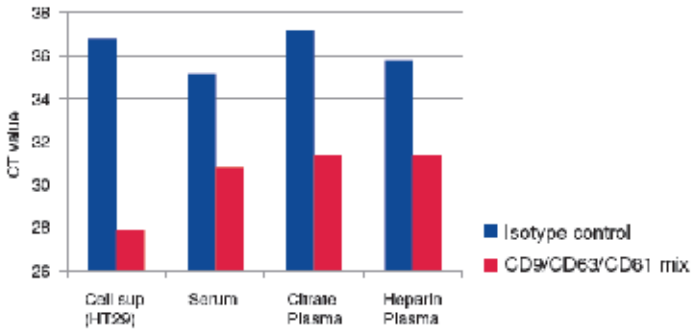
使用例

サンプル：HT-29 細胞培養上清、健常人血清、健常人クエン酸血しょう、健常人ヘパリン血しょう
ビーズ：CD9/CD63/CD81混合ビーズ(ストレプトアビジン磁性ビーズにCD9、CD63、CD81の各ビオチン標識抗体を結合させた後、等量ずつ混合して使用)

■ Western blotting



■ miR-21のqRT-PCR



製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1057】

関連パンフレット情報
Web ページ ID【1050】

製品リスト
＜キット＞

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
MEX-SA123	ExoCap™ Streptavidin CD9/CD63/CD81 Set	1 Set	¥55,000

※本製品は ExoCap™ Streptavidin Kit (Code No. MEX-SA) と CD9、CD63、CD81 のビオチン標識抗体のセット品です。キットおよびビオチン標識抗体の 50 μL 包装品のみでもお求めいただけます。

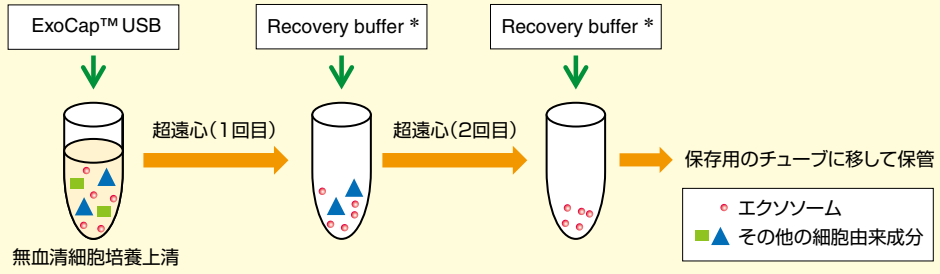
注目！ 特におすすめ 超遠心法でエクソソームを回収する方　エクソソーム >> キット

エクソソームの超遠心分離・保存用試薬
ExoCap™ Ultracentrifugation/Storage Booster

特徴

- 超遠心分離法によるエクソソームの回収率を高めます。
- 精製後のエクソソームの４℃での保存安定性を高めます。

プロトコル概要



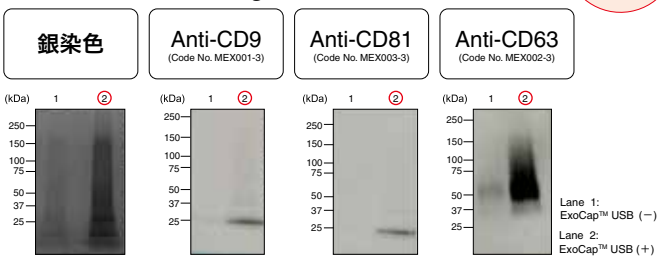
*Recovery buffer : ExoCap™ Ultracentrifugation/Storage Booster（ExoCap™ USB）10倍希釈液

使用例：HT29無血清細胞培養上清からのエクソソーム単離

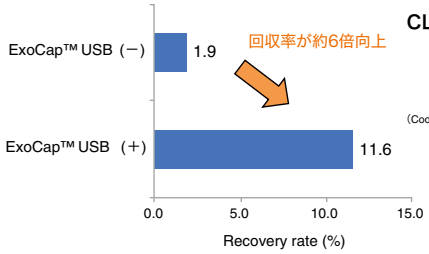
1. 分離直後のエクソソームの回収率の評価

回収率アップ!

■ 銀染色、Western blotting

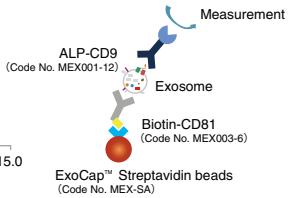


■ CLEIA



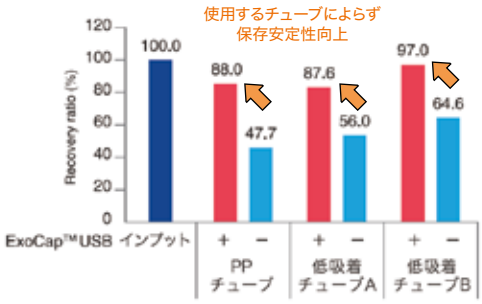
回収率アップ!

CLEIAでのエクソソームの測定



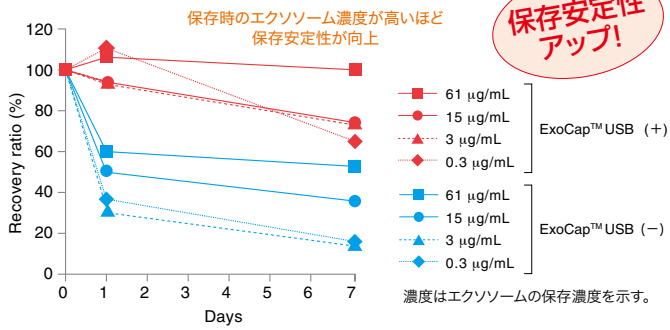
2. CLEIAによるエクソソームの4℃保存安定性の評価

（1）4℃、一晩保管



保存安定性アップ!

（2）4℃、7日間保管



保存安定性アップ!

製品リスト
＜キット＞

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
MEX-USB	ExoCap™ Ultracentrifugation/Storage Booster	50 mL	¥15,000

製品ピックアップ情報 Web ページ ID【1027】

関連パンフレット情報 Web ページ ID【1047】

関連パンフレット情報 Web ページ ID【1051】
ExoCap™ USB ユーザーアプリケーションノート

エクソソームマーカー抗体や関連製品はこちら

エクソソーム製品リスト Web ページ ID【1088】

新発売

CircuLex™

キット >> 疾患関連マーカー >>CircuLex

キーワード：神経疾患

神経疾患のバイオマーカー

CircuLex S100B ELISA Kit

S100Bは、2つのEF-handを持つカルシウム結合タンパク質S100タンパク質ファミリーのひとつで、特にアストロサイトで高発現しています。脳脊髄液や血清におけるS100Bタンパク質レベルの上昇は、脳損傷の程度や神経系の疾患の状態との関連が指摘されています。生体中のS100Bレベルの解析は神経疾患の予防や治療薬の開発に貢献することが期待されています。

性能

[サンプルタイプ] 組織抽出液、細胞抽出液、乳など
[交差性] ヒト、マウス、ラット
[測定範囲] 0.313 pg/mL ～ 20 pg/mL
[感度] 0.126 pg/mL～

新発売

CircuLex™

キット >> 疾患関連マーカー >>CircuLex

キーワード：脂質代謝

脂質代謝の研究に、ヒト FABP4 ELISA が新登場

CircuLex Human FABP4/ A-FABP ELISA Kit

FABP4 (Fatty acid binding protein 4) は、脂肪細胞特異的脂肪酸結合タンパク質 (A-FABP) とも呼ばれ、分化した脂肪細胞に発現している分子量15 kDa前後のタンパク質です。メタボリックシンドロームは代謝と炎症が関与していることが知られ、FABP4は、両者を関連付ける鍵として注目されています。

性能

[サンプルタイプ] 培養上清、血清など
[交差性] ヒト
[測定範囲] 37.5 pg/mL ～ 2,400 pg/mL
[感度] 27.8 pg/mL～

新発売

CircuLex™

キット >> 疾患関連マーカー >>CircuLex

キーワード：がん

多様ながんと関連する Fibulin-3 を定量するなら

CircuLex Human Fibulin-3/ EFEMP1 ELISA Kit

Fibulin-3はフィブリンタンパク質の1種で、EFEMP1とも呼ばれています。腫瘍の種類によって、抑制的に、あるいは亢進的に機能することが報告されています。肺がん、乳がん、肝細胞がんではFibulin-3の発現低下と予後不良の関連が報告されている一方で、悪性神経膠腫、子宮頸がん、すい臓がんではFibulin-3の発現レベルの上昇が悪性度に相関していることが報告されています。最近では中皮腫のバイオマーカーとしての可能性も期待されています。

性能

[サンプルタイプ] 培養上清、血清など
[交差性] ヒト
[測定範囲] 1.5 ng/mL ～ 96 ng/mL
[感度] 0.626 ng/mL～

新発売

CircuLex™

キット >> 疾患関連マーカー >>CircuLex

キーワード：発生、神経栄養因子

脳の発生、成長の指標として

CircuLex S100G/CaBP9K ELISA Kit

S100タンパク質ファミリーのひとつであるS100Gは、もともと腸のビタミンD依存性カルシウム結合タンパク質として研究されており、細胞内遊離カルシウムのレベルを調節することが示されてきました。最近ではS100Gは脳の発生において神経栄養因子としての効果を有すると考えられ、生体液中のS100Gレベルの変化が胎児の脳損傷の早期、かつ、定量的な指標として役立つ可能性が期待されています。

性能

[サンプルタイプ] 組織抽出液、細胞抽出液、尿など
[交差性] ヒト、マウス、ラット、ウシ
[測定範囲] 62.5 pg/mL ～ 2,000 pg/mL
[感度] 62 pg/mL～

製品リスト
＜キット＞

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
CY-8118	CircuLex S100B ELISA Kit	96 Assay	¥98,000
CY-8120	CircuLex Human Fibulin-3/EFEMP1 ELISA Kit	96 Assay	¥98,000
CY-8122	CircuLex Human FABP4/A-FABP ELISA Kit	96 Assay	¥98,000
CY-8123	CircuLex S100G/CaBP9K ELISA Kit	96 Assay	¥98,000

製品ピックアップ
Web ページ ID【1089】

新発売　使用文献あり

病理染色関連ツール >> 抗体

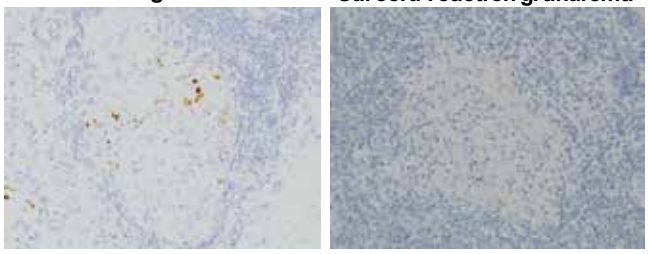
特におすすめ　病理染色を行う方

免疫染色でのアクネ菌の検出に！

Anti-*P. acnes* mAb (PAB抗体)

サルコイドーシス肉芽腫内でアクネ菌を検出できる免疫染色用抗体です。サルコイドーシスと同様の組織学的所見を有するサルコイド反応と鑑別する場合に、PAB抗体の免疫染色が有用です。

Sarcoid granuloma　Sarcoid reaction granuloma



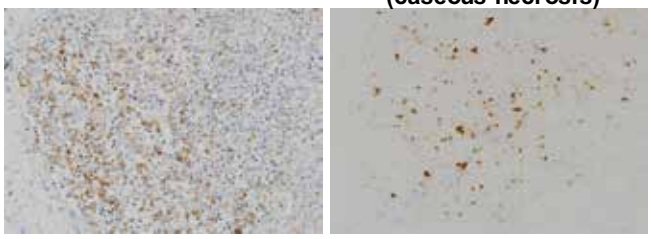
データご提供：東京医科歯科大学　江石 善信 先生

免疫染色での結核菌の検出に！

Anti-Mycobacteria mAb (LAM抗体)

結核菌のリポアラビノマンナン（LAM）に対する免疫染色用抗体です。石灰化した古い結核巣中の結核菌を検出できます。また、BCGポリクローナル抗体と比べて感度が高く、サルコイドーシスに反応せず肉芽腫性疾患を検出する際に有効です。

Pulmonary Tuberculosis　Pulmonary Tuberculosis (caseous necrosis)



データご提供：東京医科歯科大学　江石 善信 先生

製品リスト ＜抗体＞

	Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	包装	使用方法	交差反応性	価格（税別）
NEW!	D371-3	Anti-*P. acnes* mAb (PAB antibody)	TMDU2	Mouse IgMκ	100 μg/100 μL	WB, IH	*P. acnes*	¥52,000
NEW!	D372-3	Anti-Mycobacteria mAb (LAM antibody)	TMDU3	Mouse IgMκ	100 μg/100 μL	WB, IH	Mycobacteria	¥52,000

WB: Western Blotting, IH: Immunohistochemistry

新発売

幹細胞研究 >> 抗体

特におすすめ　幹細胞からの分化誘導を行う方

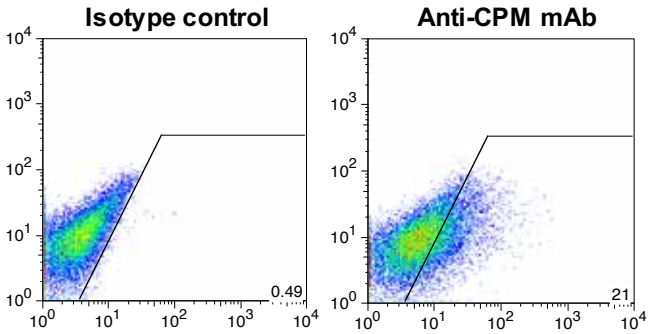
セルソーターによるヒト CPM 陽性細胞の分離に！

Anti-CPM mAb

特徴

- **フローサイトメトリーでの解析や CPM 陽性細胞の分離にお使いいただけます。**

使用例



サンプル：iPS 細胞由来肝前駆細胞
抗体：Anti-CPM mAb, 50 ng/mL

データご提供：東京大学分子細胞生物学研究所 発生・再生研究分野
木戸 丈友 先生、宮島 篤 先生

参考文献

Kido T *et al.* CPM Is a Useful Cell Surface Marker to Isolate Expandable Bi-Potential Liver Progenitor Cells Derived From Human iPS Cells. Stem Cell Reports. 5, 508-15 (2015)

製品リスト ＜抗体＞

	Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	包装	使用方法	交差反応性	価格（税別）
NEW!	M233-3	Anti-CPM mAb	C3-1	Mouse IgG1κ	10 μg/100 μL	FCM	Hu, Mky (w)	¥48,000

FCM: Flow Cytometry, Hu: Human, Mky: Monkey, (w): weak

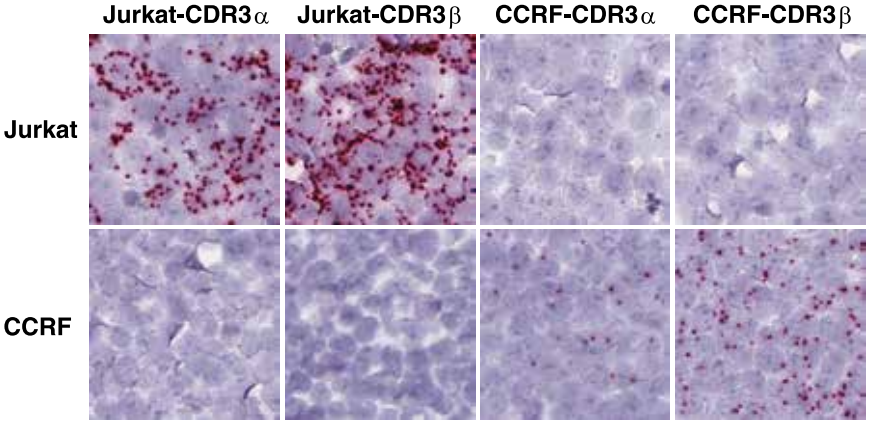
がん・がん免疫分野でも注目されています！

RNAscope® / BaseScope™ ～超高感度 *in situ* ハイブリダイゼーションシステム～

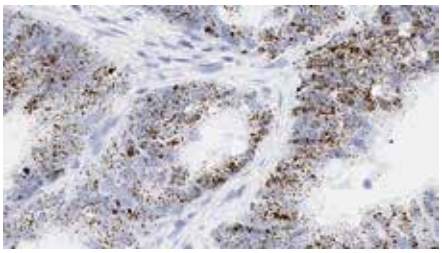
特徴

- 使用文献は 1,500 報以上！ (2018 年 8 月時点)
- 独自の増感ステップで、超高感度化を実現
- ドット状の染色像で定量可能
- RNA 断片化の影響を受けにくく、RNase-free の環境不要
- 前処理から封入まで約 8 時間
- 様々な遺伝子、動物種、サンプルに対応

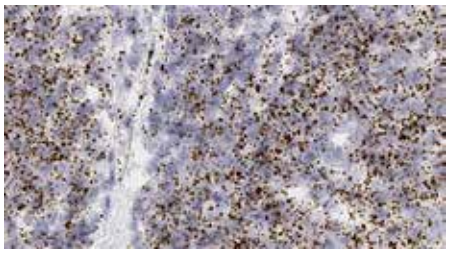
■ 抗原特異的T細胞のCDRをBaseScope™で識別



■ IHC検出が難しいターゲットをRNAscope®で検出

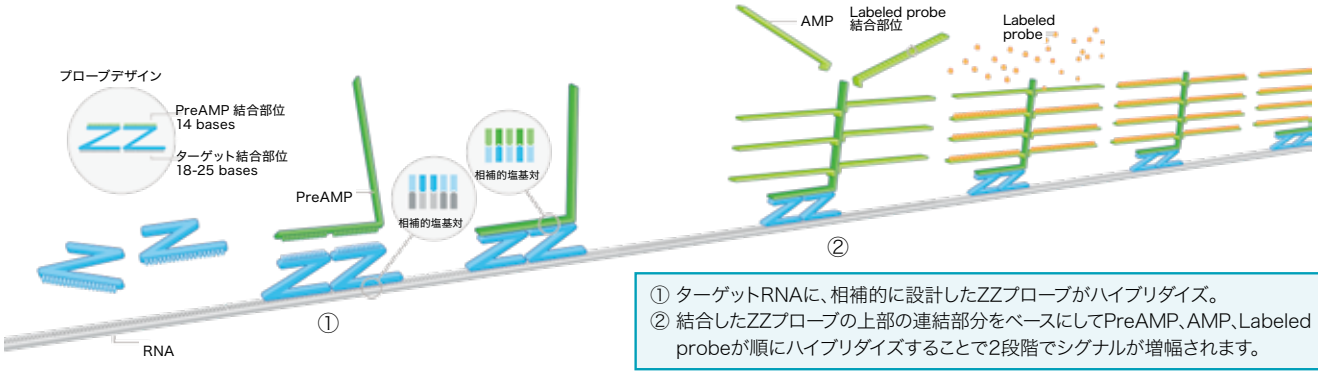


Human colon cancer_LGR5



Human testicular cancer_PTEN

超高感度テクノロジーの基本原理 -RNAscope® -



① ターゲットRNAに、相補的に設計したZZプローブがハイブリダイズ。
② 結合したZZプローブの上部の連結部分をベースにしてPreAMP、AMP、Labeled probeが順にハイブリダイズすることで2段階でシグナルが増幅されます。

＜検出キット（フルキット）＞

Code No.	製品名	検出	色調	包装	価格（税別）
322300	RNAscope® 2.5 HD Reagent Kit-BROWN	色素	Brown	1 KIT [20 slides]	¥200,000
322350	RNAscope® 2.5 HD Reagent Kit-RED	色素（蛍光）	Red	1 KIT [20 slides]	¥200,000
323900	BaseScope™ Reagent Kit v2-RED	色素（蛍光）	Red	1 KIT [20 slides]	¥225,000

※RNAscope®のキットは他にもご用意があります。詳しくは弊社HPをご覧ください。

＜プローブ＞

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
ACD Cat. No.	RNAscope® Target Probe （ACD 社のカタログ掲載名）	1 VIAL [20 slides]	¥113,000 ～
ACD Cat. No.	BaseScope™ Target Probe （ACD 社のカタログ掲載名）	1 VIAL [20 slides]	¥150,000 ～

※BaseScope™ プローブはRNAscope® プローブと互換性がありませんのでご注意ください（最新のカタログ情報はACD社のウェブサイト https://acdbio.com/ をご確認ください）

既存プローブが無い場合、プローブのカスタム作製も承ります。カスタマーサポート(support@mbl.co.jp)までお問い合わせください。
その他必要な製品・機器類は弊社HPでご確認下さい。

製品ピックアップ情報「RNAscope®」
Web ページ ID【1072】

製品ピックアップ情報「BaseScope™」
Web ページ ID【1035】

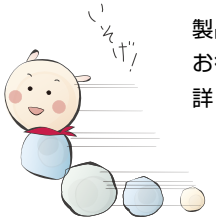
RNAscope® / BaseScope™ カタログ
Web ページ ID【1059】

Information

学会・セミナー情報

2018年9月	第77回 **日本癌学会学術総会** **2018年9月27日(木) ～ 29日(土)** 大阪国際会議場（グランキューブ大阪） リーガロイヤルホテル大阪	WebページID 【1071】
2018年11月	第46回 **日本臨床免疫学会総会** **2018年11月8日(木)～10日(土)** 軽井沢プリンスホテルウエスト	※その他学会出展情報は Web ページをご覧ください。

アウトレットセール好評開催中！



製品有効期限が短くなった製品などを
お得なプライスでご提供いたします。
詳しくはWebページをご覧ください。

＊在庫無くなり次第終了となりますので、
注文頂いた際に製品を用意出来ない場合も
あります。
その場合は何卒ご了承ください。

MBLライフサイエンス
サイトTOPからバナーをクリック！

製品使用文献・データを募集しています！

MBL製品を使用した学術論文および
MBL製品使用データがございましたら、
ぜひご一報ください！

**プレゼント対象製品一覧から、
1品をプレゼントいたします！**

＊該当論文およびお送りいただきました
データは、製品使用文献やご提供データとして
弊社 Web サイト・パンフレット等に
掲載させていただく場合がございます。

MBLライフサイエンス
サイトTOPからバナーをクリック！

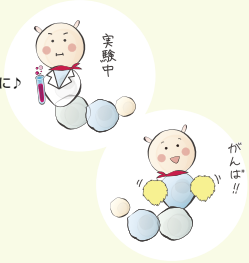
研究に役立つ MBL Web コンテンツのご紹介

MBLライフサイエンスサイトTOP
からバナーをクリック！
WebページID【977】

- ☑ 抗体の基礎知識～各実験の原理・方法まで掲載。
- ☑ AZ's Point でポイントを分かりやすく解説。
- ☑ 実験操作の動画もあります。

MBL公式キャラクター AZのLINEスタンプ販売中！

バイオ分野、
理系の皆様に♪



↓ご購入はLINEストアから

WebページID【141】

又はLINEアプリ内スタンプショップ
検索で「医学生物学」と検索

WebページIDで目的のページへすぐに到達！

① パンフレットのWebページID情報をチェック！

製品ピックアップ情報
Web ページ ID 【xxx】

② MBLライフサイエンスサイトへアクセス

MBL　ライフサイエンス　検索

③ WebページID入力タブをクリック

④ WebページIDを入力し「検索」をクリックで目的のページへ！

新発売　注目！　免疫 >> がん >> 抗体

特におすすめ 病理染色を行う方

がん組織での免疫染色に！

Anti-HLA class Ⅰ (HLA-A,B,C) (Human) mAb (clone EMR8-5.1)

製品概要

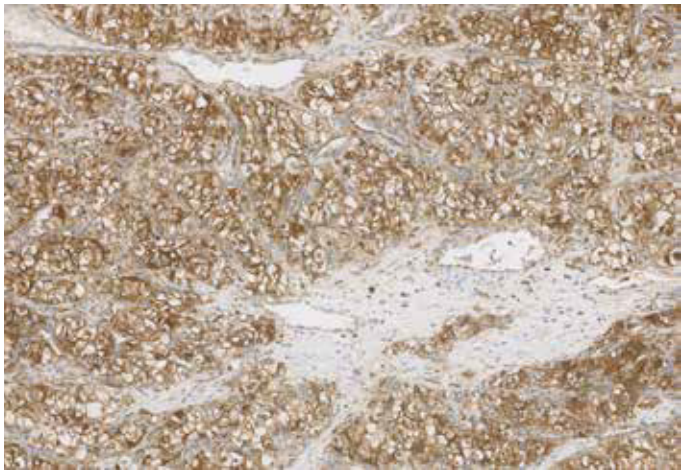
がん治療で注目されている免疫チェックポイント阻害剤やがんワクチン療法において、十分な抗腫瘍効果を得るには、標的となる腫瘍細胞がHLA class Ⅰ抗原を発現している必要があります。治療法の確立のために腫瘍細胞のHLA class Ⅰ抗原の発現を適切に評価することが重要とされております。
本製品は、ヒトHLA-A, B, Cを認識する免疫染色用抗体です。腫瘍細胞や組織でのHLA class Ⅰの発現の確認に有用です。

特徴

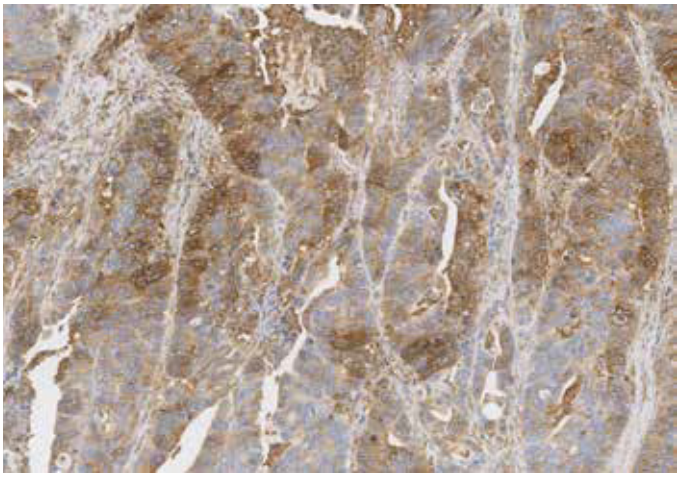
- **用手法だけでなく自動染色装置でもお使いいただけます。**
- **便利な Ready-to-use 品です。**

■ 自動染色装置を用いたがん組織での免疫組織染色例

腎臓がん



大腸がん



BOND RX (Leica Biosystems) 使用

製品リスト

	Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	包装	使用方法	交差反応性	価格（税別）
NEW!	D370-3H	Anti-HLA class I (HLA-A,B,C) (Human) mAb	EMR8-5.1	Mouse IgG1κ	6 mL	IH	Human	¥32,000

IH: Immunohistochemistry

関連製品　免疫染色以外の用途では下記製品をご使用ください。

	Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	包装	使用方法	交差反応性	価格（税別）
NEW!	D367-3	Anti-HLA class I (HLA-A,B,C) (Human) mAb	EMR8-5	Mouse IgG1κ	100 μg/100 μL	WB, IH, FCM	Human	¥38,000

WB: Western Blotting, IH: Immunohistochemistry, FCM: Flow Cytometry

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1087】

Copyright © 2018 MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD. All Rights Reserved.

2018.09　151116-19101000

MBL 株式会社 医学生物学研究所
A JSR Life Sciences Company　https://ruo.mbl.co.jp/
◎ LSTR事業部
〒105-0012
東京都港区芝大門2丁目11番8号 住友不動産 芝大門二丁目ビル
TEL : 03-6854-3614　E-mail : support@mbl.co.jp