

Bio-Rad News

Contents

Vol.14
2019年6月

- 免疫沈降サンプルのウェスタンに役立つ二次抗体 TidyBlot
- TidyBlot による免疫沈降サンプルの検出 慶應義塾大学医学部解剖学教室 井上 聖香 博士
- ZE5 Cell Analyzerを用いたフローサイトメトリーによるエクソソームの検出と分析
- **NEW** 柔軟性とカスタマイズ性を高めるZE5 Cell Analyzer用アップグレードキット
- 最適化されたマルチプレックス専用スーパーミックス Droplet Digital PCR Multiplex Supermix
- PrimePCR™アッセイで、リアルタイムPCRワークフローを短縮
- ChemiDocユーザーサイトのご紹介
- ddPCR論文検索サイト開設

免疫沈降サンプルのウェスタンに役立つ二次抗体 TidyBlot

免疫沈降 (IP) で回収したサンプルを使ったウェスタンブロット検出時には、変性したイムノグロブリンのH鎖やL鎖は二次抗体によって検出されるため、目的タンパク質が隠れてしまう場合があります。TidyBlotはこの変性H鎖およびL鎖と反応せず、目的タンパク質に対する一次抗体とのみ反応します (図1)。

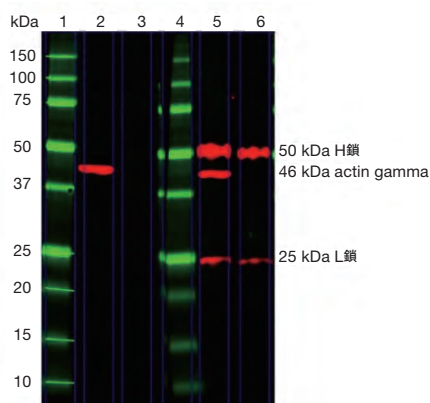


図1. IP後のウェスタンブロットでTidyBlotを使った実例

IP後のサンプルに対してウェスタンブロットを行った。レーン2と3はTidyBlot、レーン5と6は通常の二次抗体を使用した。レーン3と6は一次抗体なしのコントロールである。

TidyBlotを使ったウェスタンブロットのプロトコールは、使用している二次抗体をTidyBlotに変更するだけです。さらに、様々な動物種由来の一次抗体を認識でき、この一本で汎用性高く検出を行えます (表1)。

動物種	モノクローナル抗体	ポリクローナル抗体
Bovine	IgG2	
Goat	IgG2	
Human	IgG1, IgG2, IgG4	
Mouse	IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG1*1	すべて使用可能
Rabbit	IgG	
Rat	IgG2c	
Sheep	IgG2	

表1. TidyBlotのIgGに対する交差性

*1 マウスIgG1への親和性は弱いため、ご検討の際は確認試験を行ってください。

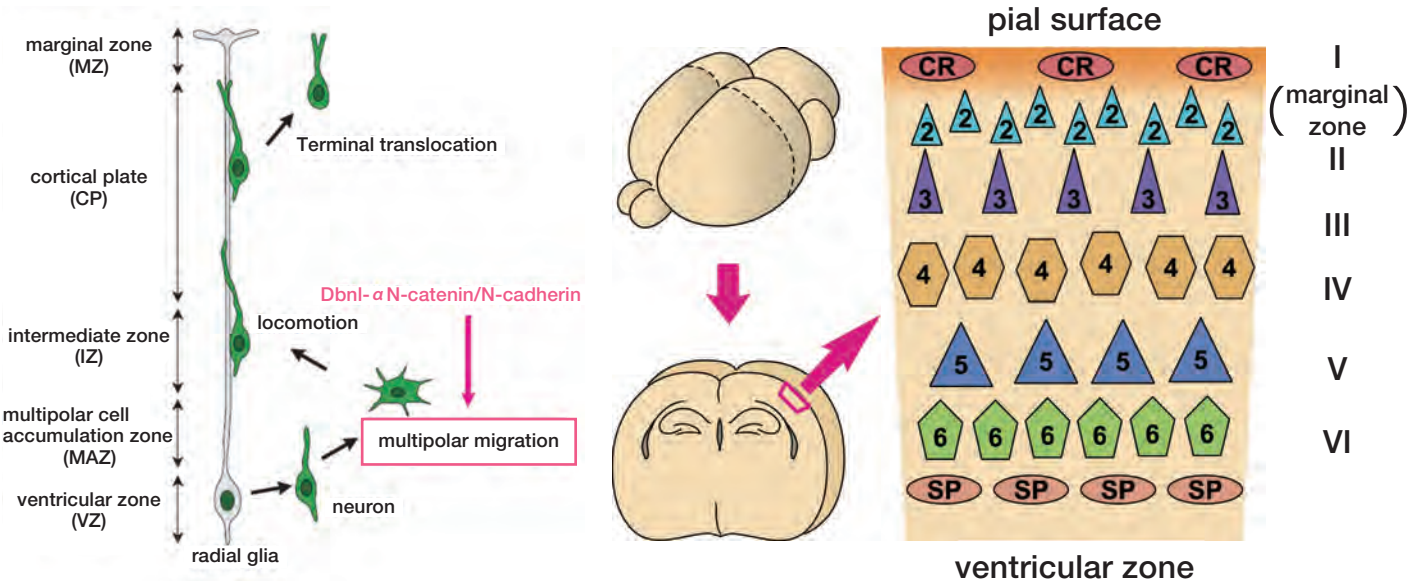
TidyBlot による免疫沈降サンプルの検出

慶應義塾大学医学部解剖学教室 井上 聖香 博士

はじめに

私たちは、子宮内胎仔脳電子穿孔法やイメージング、細胞培養などを駆使しながら、進化の最高傑作ともいわれるヒト大脳皮質形成過程の制御機構の解明を目指している。哺乳類の大脳新皮質は、6層構造を呈しており、この6層を構成する興奮性の神経細胞は、脳室面近くで誕生し脳表面へと向かって長い距離を移動する。この移動が障害されると滑脳症や皮質下帯状異所性灰白質などの要因となり得る。アクチン関連タンパク質であるDrebrin-like protein (Dbnl) は、F-アクチンやdynaminを介してアクチン骨格の再構築や樹状突起形成、エンドサイトーシスに重要

な役割を果たしている。一方、成熟した脳でのDbnlの発現は確認されているが、大脳発生における役割については未だ解明されていない。そこで、私たちは発生期大脳皮質におけるDbnlの役割について明らかにするために、免疫沈降-ウェスタンブロットングを用いて、その制御機構の解明を行った。しかしながら、Dbnlの分子量は約55,000であるため、この手法の際にH鎖とDbnlの分子量が近く、検出が難しく困っていた。そこで、通常二次抗体をTidyBlotに置き換えたところ目的のタンパク質のバンドだけを検出することに成功した。



左) 発生期大脳皮質におけるDrebrin-likeの神経細胞移動制御

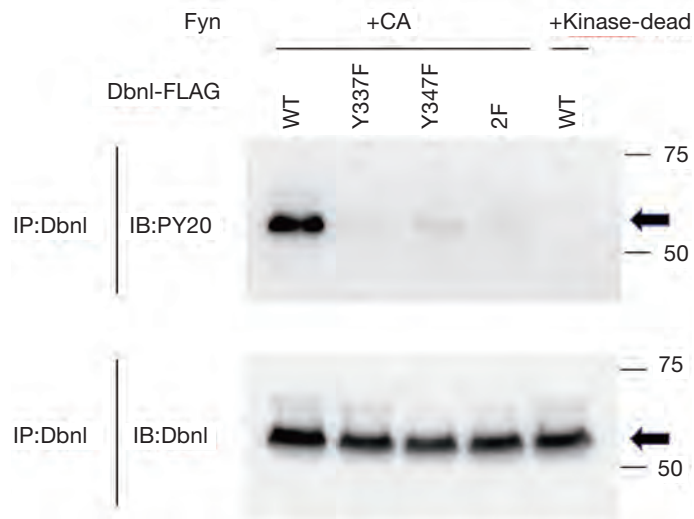
大脳皮質を構成する神経細胞 (neuron) は、脳室面 (ventricular zone:VZ) 付近の神経前駆細胞の分裂によって誕生し、多極性細胞 (multipolar cells) の形態を経て双極性細胞 (bipolar cells) に形態変化した後、脳表面に向かって移動する。マウス胎生期に子宮内電気穿孔法でDbnlをノックダウンすると多極性細胞期の移動神経細胞の形態変化、神経細胞の移動障害を示し、N-cadherin/ α N-cateninの共導入にて神経細胞移動障害をレスキューできることなどを示した。(Inoue *et al.*, *Journal of Neuroscience*. (2019))

右) 大脳新皮質の6層構造

哺乳類の脳部位のうち、特に高次機能を司る大脳新皮質は、6層構造を呈している。CR: Cajal-Retzius cells (CR cells)、SP: subplate

免疫沈降したDbnlのTidyBlotでの検出

HEK293T細胞にFyn constitutive (CA) 及びノックダウン抵抗型の野生型Dbnlまたは、リン酸化抵抗型Dbnl (Y337F、Y347F、2F (Y337F、Y347F)) を強制発現させた。回収後、一次抗体anti-Dbnl抗体 (1:100) で免疫沈降 (IP) を行った。その後、anti-PY20及びanti-Dbnl抗体でウェスタンブロット (IB) を行った。



上側のレーン：HEK293T細胞に、Fyn constitutive及びノックダウン抵抗型の野生型Dbnlまたは、リン酸化抵抗型Dbnl (Y337F、Y347F、2F (Y337F、Y347F)) を強制発現させた。回収後、DbnlでIPしたサンプルをanti-PY20抗体を用いて検出した。

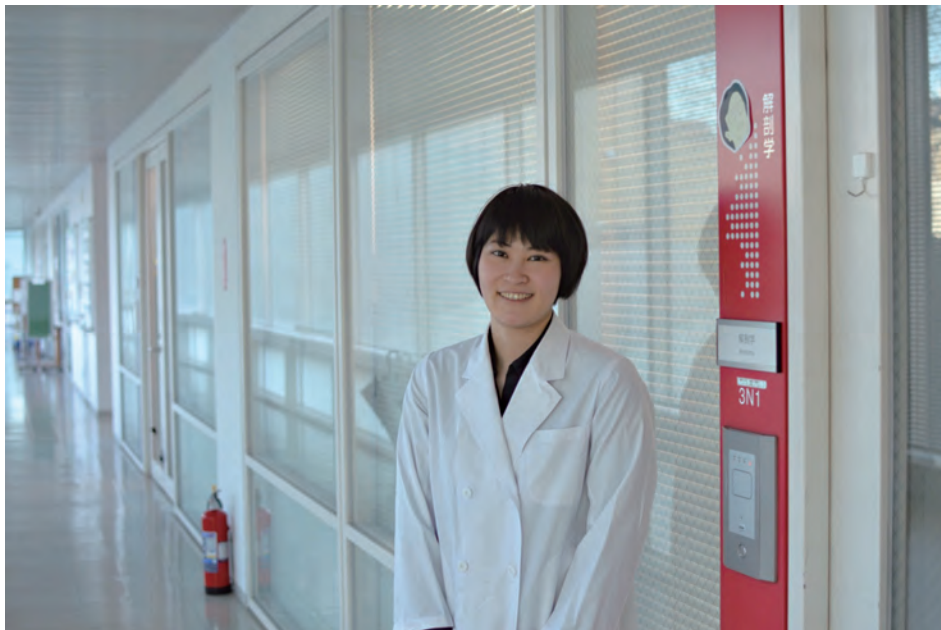
下側のレーン：HEK293T細胞に、Fyn constitutive及びノックダウン抵抗型の野生型Dbnlまたは、リン酸化抵抗型Dbnl (Y337F、Y347F、2F (Y337F、Y347F)) を強制発現させた。回収後、DbnlでIPしたサンプルをanti-Dbnl抗体を用いて検出した。
(Inoue *et al.*, *Journal of Neuroscience*, (2019))

終わりに

私たちの研究では、検出したいタンパク質分子量が約55,000のため、免疫沈降に使用した抗体 (IgG) とバンドが重なり困っていましたが、TidyBlotを試したところ検出したいタンパク質のバンドだけを検出することができました。TidyBlotは、検出したいタンパク質のバンドがL鎖またはH鎖由来のバンドと重なる問題を回避するための二次抗体として、非常に便利な商品でした。また、一次抗体のHostに合わせて二次抗体を使用していましたが、TidyBlotは一本で複数のHostにも反応するので、場合によっては時間とコストが削減できる点も便利と思います。

筆者のTidyBlotを使用した論文

Inoue S, Hayashi K, Fujita K, Tagawa K, Okazawa H, Kubo K, Nakajima K., "Drebrin-like (Dbnl) controls neuronal migration via regulating N-cadherin expression in the developing cerebral cortex", *Journal of Neuroscience* (2019), DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1634-18.2019



慶應義塾大学医学部解剖学教室
井上 聖香 博士
研究室の前にて

Ordering Information

カタログ番号	品名	容量	価格
STAR209PT	TidyBlot Western Blot Detection Reagent:HRP	50 μ l	¥12,600
STAR209P	TidyBlot Western Blot Detection Reagent:HRP	0.5 ml	¥21,000
STAR209PA	TidyBlot Western Blot Detection Reagent:HRP	1 ml	¥39,200

ZE5 Cell Analyzerを用いた フローサイトメトリーによるエクソソームの検出と分析

Yasha Talaga, Elizabeth Dreskin, Joyce Lee
Bio-Rad Laboratories, Inc. 2000 Alfred Nobel Drive, Hercules CA 94547



フローサイトメトリー

概要

エクソソームのような小さな粒子の分析は、非常に困難であることがあります。電氣的ノイズ、検出電圧の調整、シース液からの微粒子の除去、およびポピュレーション分離など、フローサイトメトリーによるエクソソーム検出のあらゆる局面において、大きな課題があります。ただし、ZE5 Cell Analyzerの卓越した性能を利用することで、これらの課題は軽減することができます。ここでは、ZE5 Cell Analyzerを用いたフローサイトメトリーによるエクソソーム検出法を比較検討し、従来法であるビーズ補足法によらず、エクソソームを直接検出できることを示します。さらに、実験上の信頼性につながる、ZE5のさらなるアドバンテージについて紹介いたします。

序

エクソソームは、直径約50~100 nmの分泌型膜小胞の一種です。それらは主に細胞内コミュニケーションに関与していますが、がんの転移や抗原提示などのいくつかの過程においても重要な役割を果たしています。エクソソームは、血液や尿を含むすべての主要な体液中に分泌され、重要な細胞情報を運ぶため、最近では、潜在的なバイオマーカーの新しいターゲットとして注目されています。しかしながら、細胞と比べて非常に小さいサイズのために、エクソソームの研究には困難が伴います。フローサイトメトリーによる従来のエクソソーム分析では、手動によるハードウェア調整、高度な機器校正、数時間におよぶシース液精製、およびデータ操作が必要です。ZE5 Cell Analyzerは、分析を容易にするための合理化されたフローによって、現在のエクソソーム研究の障害を排除します(図1)。ZE5の持つ機能を使用することにより、どの研究室でもエクソソームや他の小さな粒子を研究することが容易になります。表面マーカーであれ小胞内マーカーであれ、染色方法にかかわらず、ZE5は小粒子の同定に最適な感度を示します。ここでは、CD63やCD81などの表面エクソソームマーカータンパク質、さらに小胞内マーカー ALIXやTSG101をZE5 Cell Analyzerを使用して簡単に検出できることを示します。ZE5は、大きながん細胞の研究に加えて、微小粒子分析に使用することを可能にする多くのユニークな特長を持っています。

方法と結果

サンプル調製

MCF-7細胞(ヒト乳線がん由来)を、70~80%コンフルエントになるまで10% FBSおよび0.01 mg / mlインスリンを添加した最小必須培地(MEM)で培養しました。細胞をPBSで2回洗浄し、エクソソームフリーの培地で12~72時間インキュベートしました。培地を集め、0.22 μmのフィルターで濾過して細胞および破片を除去しました。濾過した培地を0.5倍量のTotal Exosome Isolation Reagent (Life Technologies)と十分に混合し、4℃で一晩インキュベートし、続いて4℃で1時間10,000×gで遠心しました。上清を吸引し、ペレットを0.1 μmのフィルターで濾過したPBSで洗浄した。エクソソームのタンパク質濃度およびサイズは、NanoDrop Spectrophotometer (Thermo Scientific Inc.) および Zetasizer Nano ZSP Dedicated Zeta Analyzer (Malvern Pananalytical) で調べたところ、サイズは185~300 nmでした。



図1. ZE5 Cell Analyzerを用いたエクソソーム検出ワークフロー

機器の設定

ProFlow Sort Grade Water (カタログ番号: 1451083 Bio-Rad Laboratories) を用いて、ZE5 Cell Analyzer (Bio-Rad Laboratories) でサンプルを分析しました。QCは、ZE Series QC Beads (カタログ番号: 12004403 Bio-Rad Laboratories) を用いて実施しました。装置の検出電圧とスレッシュホールド(閾値)を設定するために、0.22~1.35 μm サイズの黄色蛍光ビーズ (Spherotech) を使用しました(図2)。ZE5 Cell Analyzer では、スレッシュホールド(閾値)を最大2つまで設定できます。エクソソームの直接検出のために、405 nm レーザーを用いた前方散乱(第二FSC)、および蛍光検出チャンネルにスレッシュホールドを設定しました。

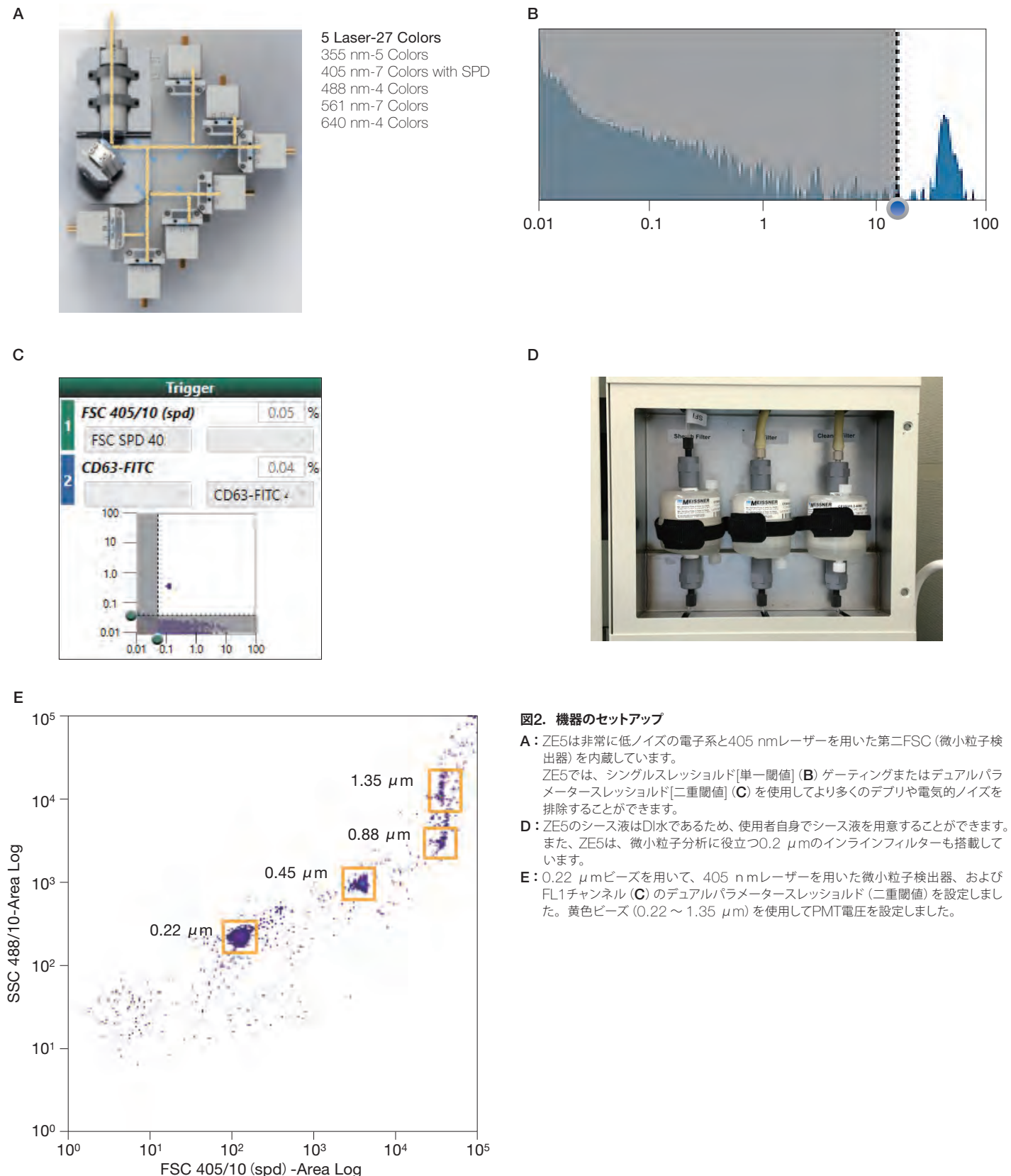


図2. 機器のセットアップ

- A:** ZE5は非常に低ノイズの電子系と405 nmレーザーを用いた第二FSC(微小粒子検出器)を内蔵しています。ZE5では、シングルスレッシュホールド[単一閾値] (B) ゲーティングまたはデュアルパラメータスレッシュホールド[二重閾値] (C) を使用してより多くのデブリや電氣的ノイズを排除することができます。
- D:** ZE5のシース液はDI水であるため、使用者自身でシース液を用意することができます。また、ZE5は、微小粒子分析に役立つ0.2 μm のインラインフィルターも搭載しています。
- E:** 0.22 μm ビーズを用いて、405 nmレーザーを用いた微小粒子検出器、およびFL1チャンネル(C)のデュアルパラメータスレッシュホールド(二重閾値)を設定しました。黄色ビーズ(0.22~1.35 μm)を使用してPMT電圧を設定しました。

ビーズを用いないエクソソーム検出

エクソソーム表面の染色に使用されるすべてのバッファーは、0.1 μm メンブレンで濾過しました。蛍光色素標識抗体は、タイトレーションしてから、表面染色に使用しました。エクソソーム 2 μg に対して、50 μl のPEB (PBS、5 mM EDTA、および0.5% BSA) を添加し、FITC標識抗ヒトCD63 (Bio-Rad Laboratories) およびAPC標識抗ヒトCD81 (BioLegend) と共に室温で30分間インキュベートしました。インキュベーション後、PEBで洗浄してから、500 μl のPEBに再懸濁しました。装置にロードする前に、エクソソーム試料を10 μm フィルターに通して濾過しました。図3に示すように、エクソソーム表面マーカーは、無染色コントロールと比較して明確に明るいポピュレーションとして検出されました。

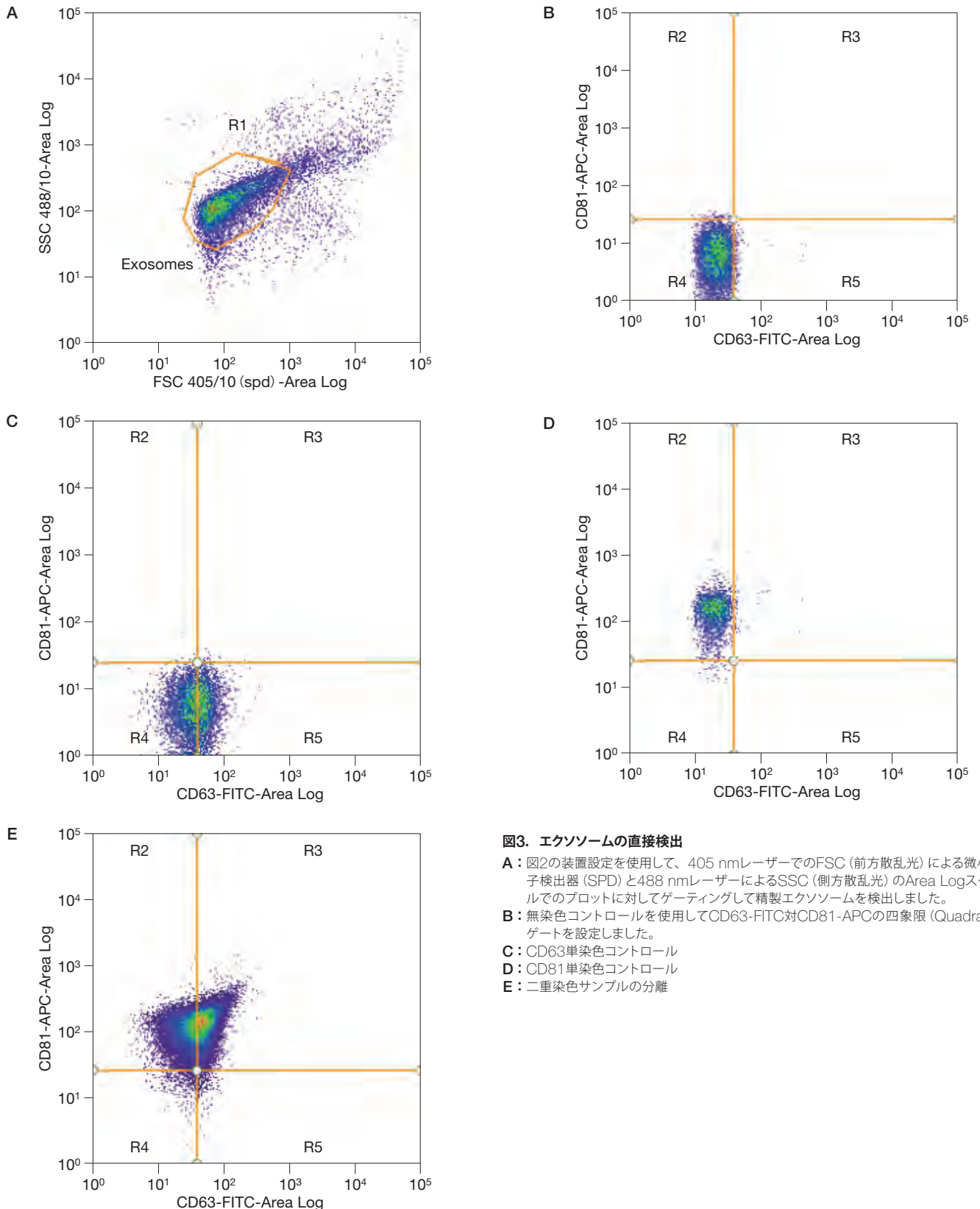


図3. エクソソームの直接検出

- A:** 図2の装置設定を使用して、405 nmレーザーでのFSC (前方散乱光) による微小粒子検出器 (SPD) と488 nmレーザーによるSSC (側方散乱光) のArea Logスケールでのプロットに対してゲーティングして精製エクソソームを検出しました。
- B:** 無染色コントロールを使用してCD63-FITC対CD81-APCの四象限 (Quadrant) ゲートを設定しました。
- C:** CD63単染色コントロール
- D:** CD81単染色コントロール
- E:** 二重染色サンプルの分離

小胞内染色

小胞内染色のためには、Intracellular Fixation & Permeabilization Buffer Set (eBioscience) を使用して、エクソソームの固定および透過処理を行いました。エクソソーム (2 μg) を100 μl のIC Fixation Buffer中で固定し、その後、暗所にて室温で20分間インキュベートしました。インキュベーション後、サンプルを1 mlのPermeabilization Bufferで2回洗浄し、次いで100 μl の同じ緩衝液に再懸濁しました。次いで、サンプルをPE標識抗ヒトTSG101 (Abcam)、および ReadLink 492/516 Antibody Labeling Kit (カタログ番号：1351002 Bio-Rad Laboratories) で蛍光標識した抗ヒトALIX (カタログ番号：MCA2493 Bio-Rad Laboratories) と共に室温で30分間インキュベートしました。インキュベーション後、サンプルを1 mlの透過バッファーで2回洗浄し、500 μl のPEBバッファーに再懸濁しました (図4)。

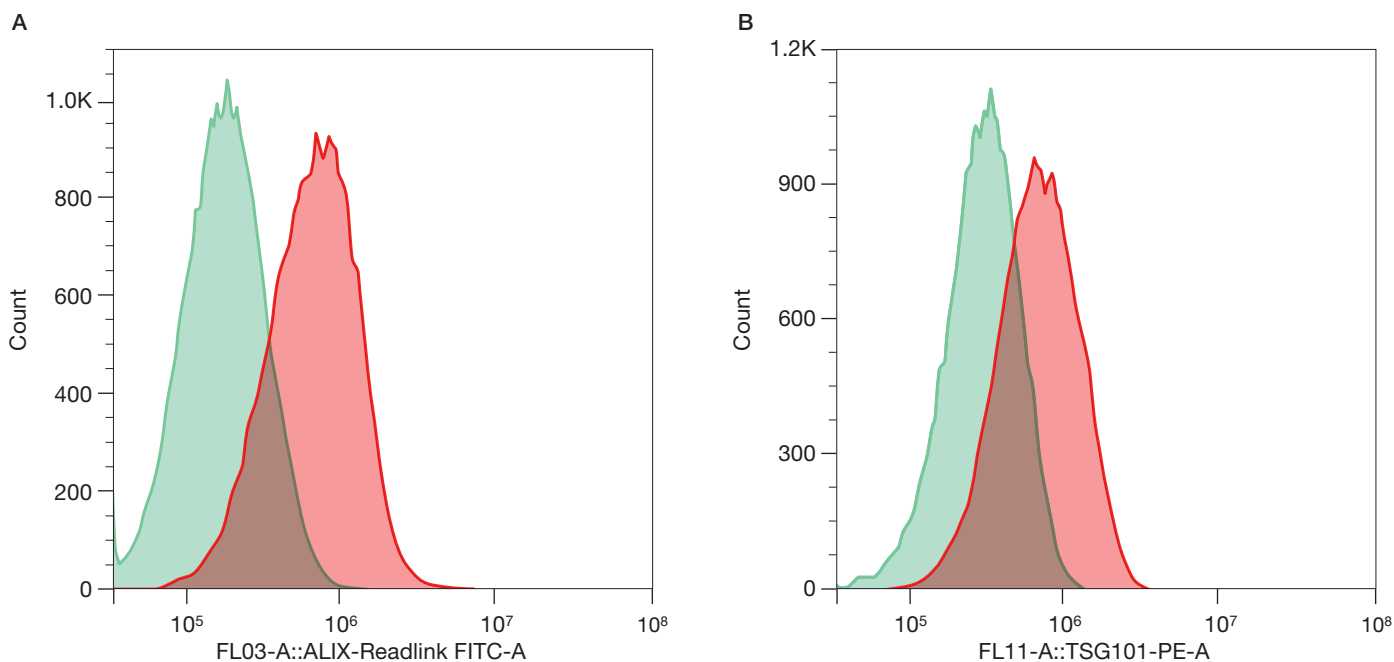


図4. 小胞内マーカーによるエクソソームの検出

小胞内マーカータンパク質TSG101およびALIXは、エクソソーム集団を特定するため、フローサイトメトリーによっても検出可能です。A: ALIX、無染色コントロール (緑)、ALIX染色 (赤)。 B: TSG101、無染色コントロール (緑)、TSG101染色 (赤)。

結論

- ZE5 Cell Analyzerではエクソソームの直接検出が可能です。
- ALIXやTSG101などの小胞内特有のエクソソームマーカータンパク質はZE5で定量できます。
- ZE5では、準備作業を省略できるため、エクソソームのワークフローがより簡単になります。

ZE5 Cell Analyzerを使用するメリット

エクソソーム研究には、シース液の精製からデータ解析におけるゲーティングに至るまで、さまざまな困難を伴います。これらの課題に対して、使いやすいシステムを用いて対処するため、多くのフローサイトメトリー研究者の意見をもとにZE5が設計されました。その結果、どんな実験室でもエクソソームなどの微小粒子の研究を可能にする機能を組み込んでいます。ZE5は非常に低ノイズの電子回路と、100 mWの405 nmレーザーを使用した微小粒子用のPMT検出器を備えています。それらに加え、デュアルパラメータスレッシュホールド処理を組み合わせることで、エクソソームを含む微小粒子をデブリやノイズから区別することができます。さらに、ZE5はシース液として脱イオン水を使用し、また、インラインシースフィルターを備えているため、事前に濾過しておく必要がありません。サンプルを濾過しておけば、プロットには、他の細胞粒子はほとんど残りません。これにより、エクソソーム集団へのゲートに対する信頼性が高ま

ります。パイオ・ラッドではビーズ捕捉法のための製品も提供していますが、ZE5 Cell Analyzerは捕捉ビーズを用いることなく、エクソソームを直接検出することが可能です。ZE5では、サイズビーズを用いることで、精製されたエクソソームを容易に集めるために素早くセットアップが可能です。

本稿はBio-Rad Laboratories, Inc. 発行のBulletin 7101 Flow Cytometry – Based Exosome Detection and Analysis Using the ZE5 Cell Analyzerの翻訳版です。英語版はwww.bio-rad.com/ze5 をご参照ください。

Bio-Radは、Bio-Rad Laboratories, Inc.の商標です。

本稿に記載されている社名及び商品名は、各社の商標または登録商標です。

柔軟性とカスタマイズ性を高めるZE5 Cell Analyzer用アップグレードキット

NEW

フローサイトメトリー

高性能セルアナライザー ZE5 Cell Analyzer用アップグレードキット発売予定!

最大5レーザー、27蛍光検出が可能でありかつ、405 nmレーザーの第二FSCによる小粒子検出器 (SPD) を装備したZE5 Cell Analyzerは5レーザーシステム、4レーザーシステムと2つの3レーザーシステムを販売しています (下表参照)。

今夏、これらの標準設定に加えてアップグレードキットとして、ZE5 Cell Analyzerの柔軟性とカスタマイズ性を高めるアップグレードキットが販売になります。

ZE5 Cell Analyzerシステムの標準仕様

システム	3レーザー		4レーザー	5レーザー
カタログ番号	12004276JA	12004277JA	12004278JA	12004279JA
蛍光総検出数	17	17	24	27
355 nm	—	—	—	5 検出器
405 nm	7 検出器	—	7 検出器	7 検出器
488 nm	6 検出器	6 検出器	6 検出器	4 検出器
561 nm	—	7 検出器	7 検出器	7 検出器
640 nm	4 検出器	4 検出器	4 検出器	4 検出器
小粒子検出器 (SPD)	—	—	—	SPD

① 355 nm レーザー 7 検出器アップグレード

このアップグレードキットはZE5 Cell Analyzer 5 レーザーシステムのUV検出器を標準の5検出器から7検出器にするためのアップグレードです。アップグレードに伴い561 nmは5検出器になります。検出チャンネルによってオプションAとオプションBの2種類があります。近年各社から発売されているUV蛍光色素を活用するためのアップグレードです。

Ch	Option A		Option B	
	Filter	蛍光例	Filter	蛍光例
1	387/11	BUV395	387/11	BUV395
2	509/24	BUV496	460/22	DAPI
3	577/15	BUV563	509/24	BUV496
4	615/24	BUV615	577/15	BUV563
5	670/30	BUV661	670/30	BUV661
6	747/33	BUV737	747/33	BUV737
7	780/LP	BUV805	780/LP	BUV805

② 355 nmレーザーアップグレードキット

このキットは4レーザーシステムや3レーザーシステムなど355 nmレーザー未搭載システムに355 nmレーザーを追加するアップグレードキットになります。このアップグレードキットでは355 nmは5検出器になります (下表参照)。

UV Laser	387/11
	447/60
	545/50
	670/30
	700/LP

③ 小粒子検出器 (第二FSC) アップグレードキット

本キットは、405 nmレーザーを搭載した4レーザー、3レーザーシステムに細菌やエクソソーム検出に有用な小粒子検出器 (405 nmによるFSC検出器) を追加することができます。

最適化されたマルチプレックス専用スーパーミックス

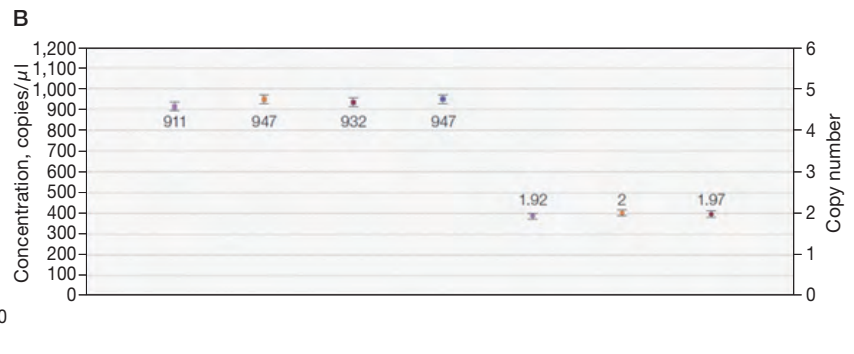
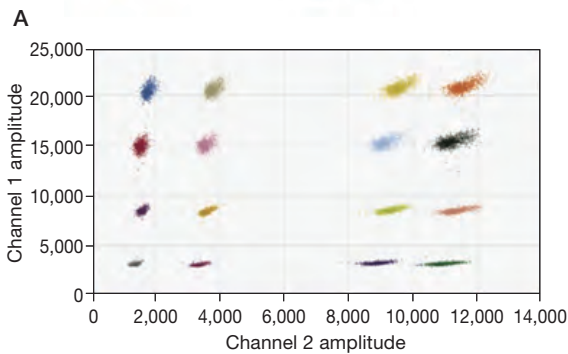
Droplet Digital PCR Multiplex Supermix

絶対定量・高感度・高精度・高処理性とバランスの良いデジタルPCRシステムとして国内の研究者の方々にご愛顧頂いておりますDroplet Digital PCR (ddPCR) システム QXシリーズ (QX100/QX200) は、2012年の販売開始から7年が経過し、現在まで3,500報を超える論文が掲載されています。このアッセイ系に既存のSupermixよりS/N比を改善し、より多くのプローブもしくはサンプルが添加可能となる4倍濃縮のSupermix、ddPCR Multiplex Supermixがラインナップに加わりました。Liquid Biopsy等でサンプル添加量を増やしたいお客様、2色蛍光ドロプレットの分離をより改善したいお客様、プローブ濃度の比率を変えたマルチプレックスアッセイに挑戦されているお客様は是非とも一度こちらの製品をご検討ください。



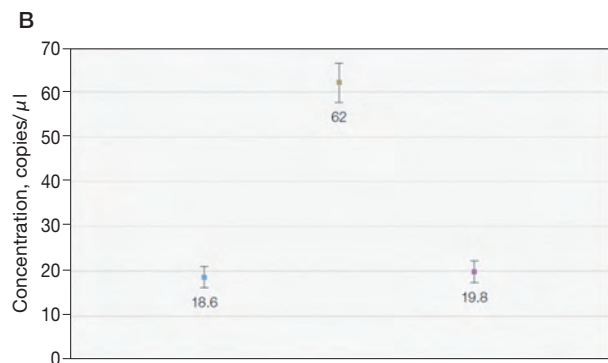
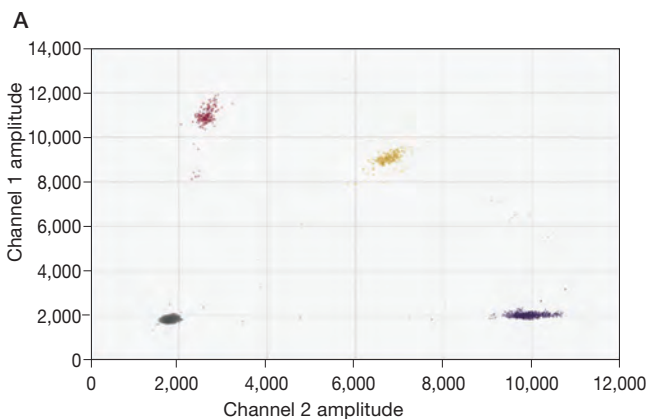
Droplet Digital PCR Multiplex Supermixの特長・利点

- ☑ プローブアッセイでの複数ターゲット増幅および検出を最適化
- ☑ サンプルインプット量を大幅に改善
- ☑ S/N比を改善し、低濃度でも安定したパフォーマンスを実現
- ☑ CNV解析や変異検出に正確かつ高感度な絶対測定値を提供
- ☑ QX100™、QX200™およびQX200 AutoDG™ Droplet Digital PCRシステムに使用可能



単一ウェル中での異なる4遺伝子を対象としたCNV測定の結果

A：2-D蛍光プロットはQX200 ddPCRシステムのチャンネル1 (FAM) およびチャンネル2 (HEX) を用いて*ERBB2*、*PIK3CA*、*BRAF V600*および*RPP30*のマルチプレックス解析を示しています。**B**：濃度プロットは単一ウェルにて同時測定した*ERBB2* (■)、*PIK3CA* (■)、*BRAF V600* (■) および*RPP30* (■) をcopies/μlでそれぞれ表示しています。またコピー数はそれぞれのデータポイントにて*ERBB2* (●)、*PIK3CA* (●)、*BRAF V600* (●) として表示されています。エラーバーは信頼区間95%を示しています。



プローブ濃度の比率を変えた3 Plexアッセイ (2ターゲット変異型と1野生型) の測定結果

A：2-D蛍光プロットはQX200 ddPCRシステムのチャンネル1 (FAM) およびチャンネル2 (HEX) を用いて*KRAS G12C*、*KRAS G12D*および野生型のプローブ濃度比を変更したアッセイによるマルチプレックス解析を示しています。*KRAS G12C*は100% FAMプローブで、*KRAS G12D*はプローブの50%がFAMと50%がHEXが修飾された混合プローブによって、また*KRAS G12*野生型は100% HEXプローブによってデザインされています。左下グレーのクラスターはネガティブドロプレット、赤色は*KRAS G12C*、オレンジは*KRAS G12D*、および紫は*KRAS G12*野生型が検出されています。**B**：濃度プロットは*KRAS G12C* (■)、*KRAS G12D* (■)、*KRAS G12*野生型 (■) がそれぞれcopies/μlで表示されています。エラーバーは信頼区間95%を示しています。

Ordering Information

カタログ番号	品名	梱包	価格
12005909	ddPCR Multiplex Supermix (200ウェル)	2 x 0.5 ml	¥55,000
12005910	ddPCR Multiplex Supermix (500ウェル)	5 x 0.5 ml	¥130,000
12005911	ddPCR Multiplex Supermix (2,500ウェル)	5 x 2.5 ml	¥580,000

(注) 当キットは研究用試薬であり、QX100/QX200 Droplet Digital PCRシステムにおける専用試薬です。診断および治療目的には使用できません。本製品は既存のSupermixよりも粘性が高いため攪拌操作が必要となります。詳しくは製品添付のマニュアルをご確認ください。

PrimePCR™アッセイで、リアルタイムPCRワークフローを短縮

現在、リアルタイムPCRで遺伝子発現を行っていますか？
もしかすると、そのワークフローから少なくとも4つのステップを削減できるかもしれません。

PrimePCR™ アッセイ&アレイでは、遺伝子発現解析用にプライマーとプローブをデザインしました。定量RT-PCR (RT-qPCR) 遺伝子発現ワークフローからいくつかのステップを省くことができるため、必要な時間とあなたのフラストレーションを大幅に減らせます。

プライマー / プローブ配列は決定済み

目的の遺伝子を特定したら、PrimePCRのWebサイトにアクセスしてその遺伝子を検索し、必要なプライマーやプローブを購入するだけです。使えるかもしれないし使えないかもしれない配列を論文から探したり、自分でデザインしたりする必要はありません。

プライマー / プローブはデザイン済み

より確実な結果を得るため、バイオ・ラッドのプライマーとプローブは、一塩基多型 (SNPs)、およびプライマーアニーリング部位の二次構造を避けるようにデザインされています。また、可能な場合はイントロンを挟んだ配列を使用し、最新の実験条件にも適合するようなデザインとしています。

PrimePCR™ デザインの特長

デザインの特長	重要性
転写産物の高いカバー率	目的の mRNA のアイソフォーム、スプライシングバリエーションを検出できるよう設計
可能な限りイントロンを挟んだ配列	cDNA のみを検出し、ゲノム DNA コンタミネーションの影響を防止
cDNA の 2 次構造形成を避ける	cDNA の 2 次構造形成による qPCR 増幅効率の減少を防止
遺伝子多型 (SNPs) を含む配列を避ける	プライマーやプローブに SNPs が含まれると増幅効率に影響
特異的な配列を特定	非ターゲット配列からの非特異的増幅を回避

プライマー / プローブはテストされており、バリデーション済み

あなたと (究極的には) あなたのボスがハッピーであるために、私たちはプライマーとプローブの特異性、増幅効率、リニアなダイナミックレンジ、プライマーダイマーについてもちゃんと使えることをベンチでテストしています。さらに、次世代シーケンサーを使って、PCR産物の特異性を確認済みです。これらのバリデーションはヒト、マウス、ラットの全てのアッセイについて行っています。

PrimePCR™を使ったqPCR実験



通常のqPCR実験



PrimePCR™ バリデーションの特長

バリデーションの特長	重要性
6 オーダーのダイナミックレンジ	ウェット実験により、アッセイのダイナミックレンジ、R ² 、増幅効率を検証
ゲノム DNA の増幅	ゲノム DNA のコンタミネーションの影響を検証
融解曲線分析	目的の増幅産物であることを融解曲線分析により確認
次世代シーケンサーによる配列検証	次世代シーケンサーにより増幅産物の配列解析を行い、特異性を確認

PrimePCR™ アッセイ

PrimePCR™ アッセイはチューブでのご提供となります。SYBR® Greenアッセイ、およびプローブアッセイからお選びいただけます。

ヒト、マウス、ラット、シロイヌナズナ、ニワトリ、ウシ、イヌ、ブタ、ウサギ、アカゲザル、酵母、ゼブラフィッシュ、イネの13の生物種に対応します。リファレンス遺伝子アッセイ、低発現遺伝子検出のためのPreAmpアッセイ、検量線やポジティブコントロールとして使用できるDNAテンプレート、各種コントロール用アッセイ等、実験に使いやすいラインアップをご用意しています。

PrimePCR™ アレイ (プレートフォーマット)

PrimePCR™ アレイは、下表のように多様なパネルをご用意しています。下記表括弧内の数字は各トピック内で提供可能なパネル数を示しています。詳細はPrimePCRサイトにてご覧ください。

疾患	パスウェイ	代謝
細菌感染と真菌症 (30)	アポトーシスと生存 (30)	アミノ酸代謝 (4)
がん、腫瘍 (175)	血液凝固 (2)	炭水化物代謝 (4)
心肥大 (51)	細胞接着 (20)	脂質代謝 (5)
先天性および遺伝性疾患 (35)	細胞周期 (20)	核酸代謝 (3)
濾胞性繊維症 (37)	走化性 (3)	脂質代謝制御 (9)
消化器疾患 (43)	細胞骨格再構成 (21)	代謝制御 (3)
内分泌系疾患 (22)	発生 (121)	ステロイド代謝 (5)
眼疾患 (19)	DNA 損傷 (9)	ビタミン、補酵素代謝 (4)
女性泌尿生殖器疾患 (44)	低酸素応答 (3)	異物代謝 (6)
血液リンパ系疾患 (52)	免疫応答 (59)	タンパク質
免疫系疾患 (52)	筋収縮 (3)	サイトカイン、ケモカイン (31)
男性泌尿生殖器疾患 (30)	神経生理学 (10)	G タンパク質 (69)
精神疾患 (29)	酸化ストレス (3)	成長因子 (29)
筋骨格系疾患 (34)	タンパク質分解 (7)	ホルモン (28)
神経性疾患 (73)	再生 (4)	リン酸化酵素 (10)
栄養代謝疾患 (40)	転写 (8)	脱リン酸化酵素 (2)
耳鼻咽喉疾患 (12)	翻訳 (8)	セカンドメッセンジャー (10)
寄生虫疾患 (10)	輸送 (4)	転写因子 (10)
病的状態と兆候 (51)	SAB ターゲットリスト	Long non-coding RNA
気道感染症 (26)	24 項目	がん (8)
皮膚および結合組織疾患 (47)	300 種以上	免疫学 (5)
口顎疾患 (18)	リファレンス遺伝子	生物学的プロセス (7)
ウィルス性疾患 (29)	96 well 2 種	
創傷 (4)	384 well 1 種	

PrimePCR™ サイト

PrimePCR™アッセイおよびアレイは、PrimePCRサイト (www.bio-rad.com/PrimePCR)、または「PrimePCR」で検索)にて検索できます。各アッセイ、パネルのページから、関連パスウェイ、各種データベースへのリンク、参考文献等が参照いただけます。目的のアッセイまたはパネルが見つかりましたら、オーダーフォームを発行し、販売代理店様にお渡しください。



Ordering Information

品名	参考価格
qPCR アッセイ (SYBR® Green), Wet-lab validated	
200反応	¥16,000
1,000反応	¥48,000
qPCR プローブアッセイ (FAM), Wet-lab validated	
200反応	¥24,000
500反応	¥44,000
1,000反応	¥62,000
qPCRアレイ (SYBR® Green), Wet-lab validated	
96 well	¥26,000~34,000
384 well	¥38,000~44,000
ddPCR™ アッセイ (内容により異なります)	
200反応	¥32,000~
1,000反応	¥78,000~
2,500反応	¥124,000~

※ご注文にはPrimePCRサイトにて発行したオーダーフォームを販売店様にご提出してください。詳細はPrimePCRサイトをご覧ください。

ChemiDocユーザーサイトのご紹介

バイオ・ラッドではChemiDocシリーズをご利用のお客様向けの専用ウェブサイトを開設しております。

本ウェブサイトにご登録のお客様は電気泳動やウェスタンブロットング関連の機器、試薬を特別価格でご購入いただけます(期間限定)。なお、本サイトへのアクセスは事前登録が必要です。

対象となるお客様

以下の製品をご利用の全てのお客様



ChemiDoc Touch / Touch MP



ChemiDoc MP



ChemiDoc XRS Plus

ご登録方法

以下のアドレスにアクセスの上、必要事項(ご所属、お名前、メールアドレス、ご使用機器のシリアル番号)をご入力の上、申し込みいただきますようお願いいたします。追ってお申込みのメールアドレスへユーザーサイトアドレス情報をご案内させていただきます。

- ご登録用アドレス https://info.bio-rad.com/cd_user_reg_jp.html



ddPCR論文検索サイト開設

Bio-RadのDroplet Digital PCRシステムは日本では2012年から販売が開始され、現在数多くのお客様にご使用いただいております。

それに伴い論文の掲載実績も増加しており、2019年1月の時点で3,400報を超えました。そこで弊社ではDroplet Digital PCR (ddPCR) に関する最新の研究結果や論文の検索を容易にする論文検索サイトを開設いたしました。キーワード検索やアプリケーション別での検索が可能となり、ご興味ある研究分野の論文を簡単に検索できます。

- 論文検索サイトは右記のURLよりご参照いただけます。 www.bio-rad.com/ddPCR/publications

- ① 現在検索可能な総論文数、去年の論文数、今年の論文数が表示されます。こちらは月に1回更新されます。

- ② タイトル、著者名、雑誌名、キーワード等を入力ください。

- ③ 年別、アプリケーション別でも検索が可能です。

※論文のアップロードは1ヵ月毎に行われ、2~3ヵ月前までに発表されている論文を検索することが可能です。

※検索結果をエクセルやPDF等にアウトプットすることはできません。

※弊社では最新の注意を払いデータベースを構築しておりますが、検索情報に間違いや漏れがございましたら、お手数ではございますが life_ps_jp@bio-rad.com までメールにてご連絡ください。

BIO-RAD

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

取扱店

ライフサイエンス

www.bio-rad.com

本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 TEL: 03-6361-7000

大阪営業所 〒532-0025 大阪市淀川区新北野 1-14-11 TEL: 06-6308-6568

福岡営業所 〒812-0013 福岡市博多区博多駅東 2-5-28 TEL: 092-475-4856

※学術のお問い合わせは TEL: 03-6404-0331

※価格(税抜き)、仕様は2019年5月現在のものです、予告なく変更することがあります。
※本カタログに記載されている会社名、商品名は各社の商標または登録商標です。