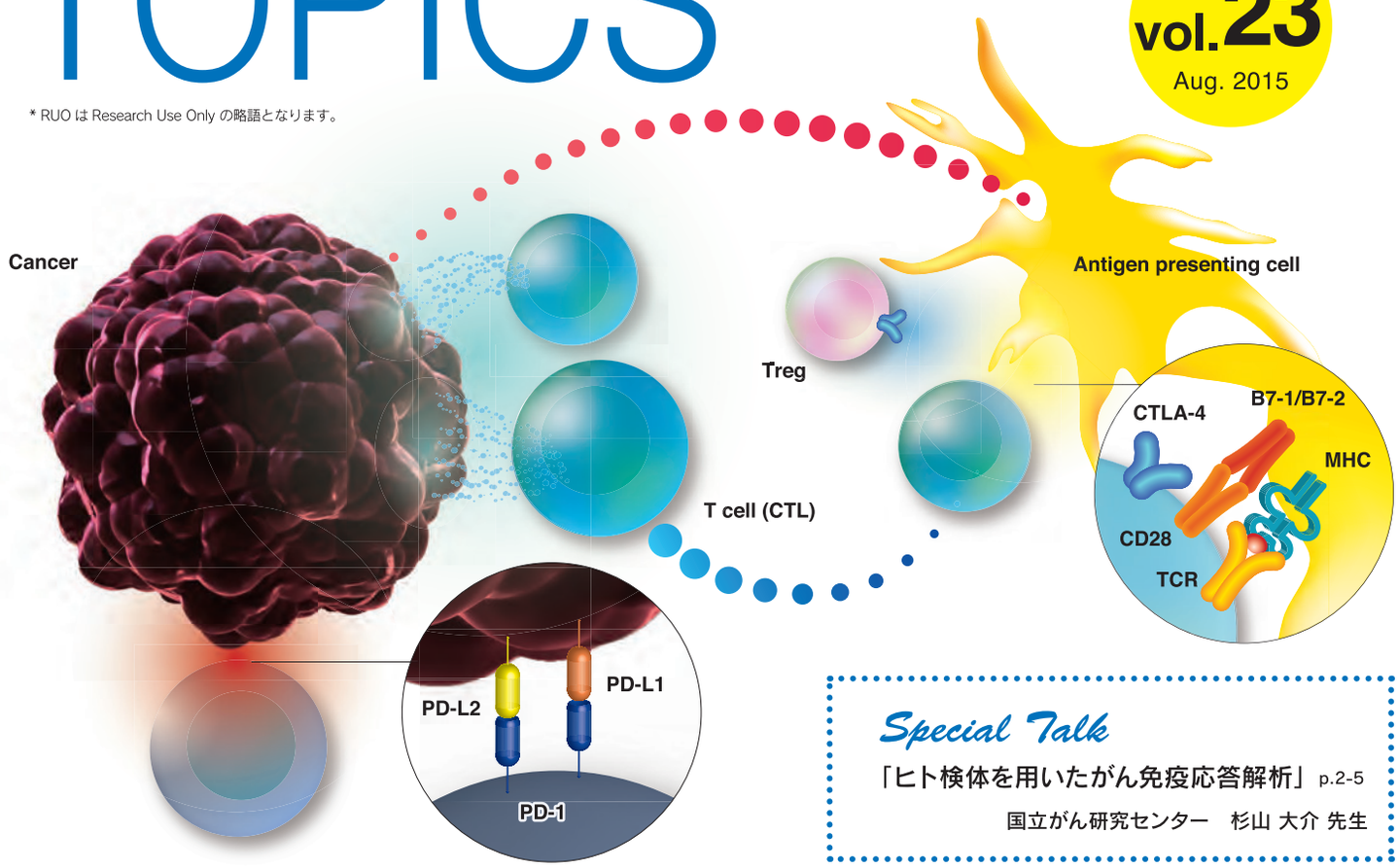
# MBL RUO TOPICS

MBL
A JSR Life Sciences Company

研究用

vol.23
Aug. 2015

* RUO は Research Use Only の略語となります。




*Special Talk*

「ヒト検体を用いたがん免疫応答解析」 p.2-5

国立がん研究センター　杉山 大介 先生

## 特集


- T-Select MHC Tetramer の原理と特異性　p.6
- MHC class I Folding Test Service (FTS)　p.8
- MHC class I custom Tetramer　p.9
- MHC Class I Tetramer【新製品】　p.10
- MHC Human Class II Tetramer【新製品】　p.12
- マウスモデルにおけるテトラマー試薬の利用　p.13
- RapiType HLA-A for East Asian Pop.　p.15
- IMMUNOCYTO Cytotoxicity Detection Kit　p.16
- Ab-Match Assembly Human MICA/MICB Kit　p.17
- Ab-Match Assembly Human Galectin-9 Kit　p.18
- 免疫チェックポイント関連抗体製品　p.19


## Topics


【新製品】

- 抗体　蛍光タンパク　p.21
- キット　植物 RNA ウイルス検出　p.22
- キット　代謝　p.22
- キット　ドラックディスカバリー　p.23
- キット　細胞培養関連　p.25

【注目！】

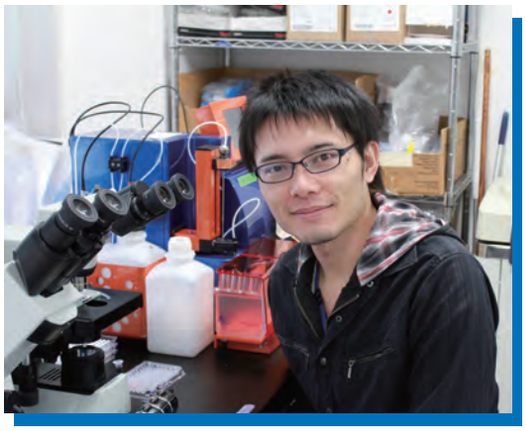
- 抗体　蛍光タンパク　p.20
- キット　オートファジー　p.20
- キット　RNA ISH 試薬　p.24
- キット　幹細胞研究　p.26, 27

【受託】

- 抗体作製　20-30%OFF キャンペーン　p.28
- 次世代シークエンス解析　p.30
- 次世代シークエンスデータ解析　p.30
- 組織標本作成　p.31

株式会社 医学生物学研究所
http://ruo.mbl.co.jp/

# ヒト検体を用いたがん免疫応答解析



**杉山　大介 先生**

国立がん研究センター　免疫 TR 分野　特任研究員

【略歴】
平成 21 年　島根大学生物資源科学部生命工学科　卒業
平成 23 年　三重大学大学院医学系研究科　修士課程卒
平成 27 年　大阪大学大学院医学系研究科　博士課程卒　医学博士取得
平成 27 年 4 月～　国立がん研究センター・免疫 TR 分野　特任研究員

## がん免疫研究の現状

1868 年の William Coley による丹毒感染がん患者での腫瘍退縮効果が報告されたことを契機にがん免疫研究が開始され、これまで 2 度の大きな転機がある。1 つは 1991 年のヒト悪性黒色腫における特異的がん抗原の発見であり、これまでがん特異的な抗原の存在が疑問視されていたが、この報告によりヒトでのがん特異的な免疫応答の存在が広く知られることとなった。もう 1 つは免疫チェックポイント分子阻害剤の誕生であり、これまでの標準治療法では予後不良であった悪性腫瘍患者に対し良好な治療効果を発揮している。現在では、治療薬として承認されている免疫チェックポイント分子阻害剤;抗 CTLA-4 抗体および抗 PD-1 抗体の適応拡大に向け、急速に臨床試験がおこなわれており、抗 PD-L1 抗体または抗 LAG-3 抗体といった新規免疫チェックポイント分子阻害剤の開発も進められている[1)]。しかし、免疫チェックポイント分子阻害剤の効果は限定されており、患者によって効果に差異が生じている。このことから、治療患者体内のがん免疫応答を解析することでこれらの阻害剤の作用機序を解明する糸口となる。また、がん免疫治療を受けていないがん患者検体を用いた免疫学的解析をおこなうことで、新規がん免疫治療法の開発に向けた基盤データを得ることができる。

本稿では、ヒト検体を用いた免疫学的解析の中でも、免疫抑制因子の一つである制御性 T 細胞（Tregs）およびがん抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞（$CD8^+$ T cells）の解析について記載する。

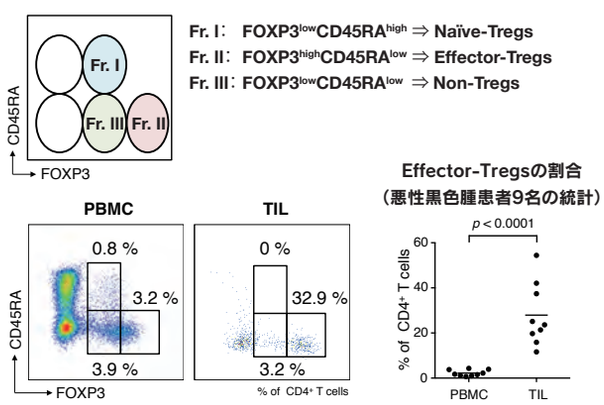



**図 1. ヒト制御性 T 細胞の分類および割合**

CD45RA 分子を用いることで FOXP3 陽性 CD4 陽性 T 細胞を以下の 3 つの細胞集団(Fr. I、Fr. II、Fr. III）に分類できる。この Tregs 分類法を用いて悪性黒色腫患者由来の検体を解析したところ、PBMC に比べ TIL では多くのエフェクター型 Tregs が存在していた。

## がん患者検体を用いたヒト Treg 解析

がん環境では様々な免疫担当細胞が機能しており、がんの進展あるいは退縮に関与している。その中で、Tregs は免疫抑制ネットワークにおいて重要な役割を担い、がん免疫応答の活性化を抑制することが示唆されている[2)]。がん患者において、頭頸部癌、肺癌、肝臓癌、胃癌、膵臓癌といった多くのがん腫で Tregs の頻度が増加していることが明らかになっており、これらの Tregs の浸潤ががん患者の予後不良因子であることが多数報告されている。Tregs は、1995 年に CD4 陽性 CD25 陽性 T 細胞としてマウスモデルにて見出され、2001 年にはヒトにおいても同様の存在が確認された。2003 年には、FOXP3 転写因子が Tregs の分化や免疫抑制機構に関わる重要なマスター遺伝子であることが報告されている。この報告より、Tregs は CD4 陽性 FOXP3 陽性 T 細胞（$CD4^+FOXP3^+$ T cells）であると定義されてきたが、ヒト FOXP3 はナイーブ CD4 陽性 T 細胞の活性化に伴い誘導されることから、Tregs の定義が混乱していた。そこで我々は、CD4 陽性 FOXP3 陽性 T 細胞に CD45RA 追加染色をおこない次の 3 つの亜集団に分類することでヒト Tregs を定義している。すなわち、naïve-Tregs（$FOXP3^{low}CD45RA^+$）、effector-Tregs（$FOXP3^{high}CD45RA^-$）、non-Tregs（$FOXP3^{low}$-$CD45RA^-$）である[3)]。それぞれの細胞画分の免疫抑制能を解析した結果、naïve-Tregs および effector-Tregs は抑制活性を有するが、non-Tregs は抑制活性をもたないことが示されている。また、effector-Tregs が最も強い抑制活性をもち、naïve-Tregs が T 細胞レセプター刺激により活性化することで effector-Tregs になることが分かっている。我々は、悪性黒色腫患者から末梢血単核球（PBMC）および腫瘍浸潤リンパ球（TIL）を採取し、上記ヒト Treg 分類法を用いたフローサイトメトリー解析をおこなった。PBMC は密度勾配遠心法により調製し、TIL は腫瘍組織の破砕およびセルストレイナーによるフィルタリングにより分離した。その結果、PBMC 中の CD4 陽性 T 細胞における effector-Tregs の割合は 1% ～ 3% 程度であり、naïve-Tregs および non-Tregs も一定数存在していた。一方で、TIL 中の $CD4^+FOXP3^+$ T cells のほとんどが effector-Tregs を示し、その割合は 20% ～ 60% であったことから、末梢に比べ悪性黒色腫局所では多数の effector-Tregs が存在することを明らかにした（図 1）[4)]。

## Effector-Tregs の選択的マーカー

がん免疫療法において、免疫抑制を担う Tregs の除去によるがん免疫応答の増強が試みられている。これまでに抗 CD25 抗体あるいは Foxp3-DTR（ジフテリア毒素受容体）トランスジェニックマウスを用いた動物実験系において、Tregs を除去することで腫瘍の退縮効果が実証されている。ヒトにおいても、ヒト化抗 CD25 抗体（ダクリズマブ）あるいはジフテリア毒素融合 IL-2 製剤を用いた Treg 除去法が実施されているが効果は得られていない。その原因として考えられるのは CD25 を標的としている点であり、確かに CD25 は Treg マーカーではあるが、一方で活性化 T 細胞にも発現するため CD25 を標的とする際に Tregs だけでなくがんの排除に関わる活性化 T 細胞も除去している可能性がある。さらに、Tregs は免疫の恒常性に関わっているため Tregs を除去することで自己免疫疾患を発症する恐れがある。実際、*FOXP3* 遺伝子の突然変異による Treg 機能不全が IPEX 症候群の原因であり、IPEX 症候群では I 型糖尿病や自己免疫性甲状腺炎といった重度自己免疫疾患を生後 3 年以内に非常に高頻度で発症する。このように、Treg 除去法では自己免疫疾患を予防しつつ Tregs の免疫抑制を解除する方法を見出す必要がある。

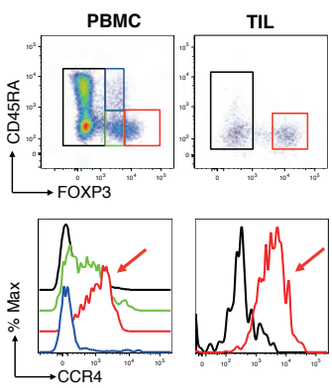



**図 2. Effector-Tregs 選択的な CCR4 発現**

ヒト Treg 分類における CCR4 発現を解析した。（上図）フローサイトメーターによるヒト Treg 分類。それぞれ青＝Naïve-Tregs、赤＝Effector-Tregs、緑＝Non-Tregs、黒＝$FOXP3^-CD4^+$ T cell を示す。（下図）各細胞集団における CCR4 発現。Effector-Tregs において CCR4 発現が最も高い。

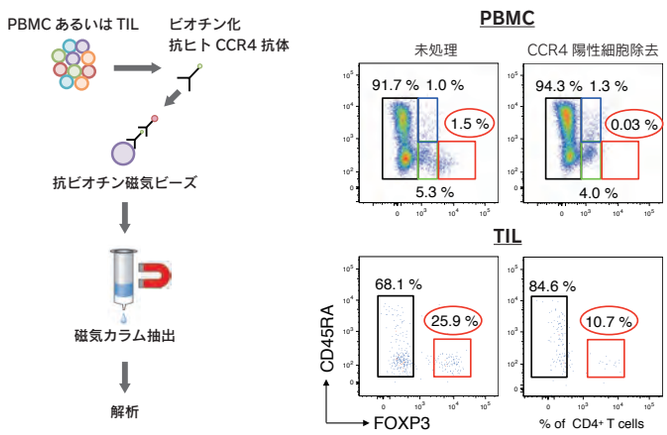



**図 3. 磁気ビーズを用いた CCR4 陽性細胞除去**

抗ヒト CCR4 抗体および磁気ビーズを用い、悪性黒色腫患者の PBMC および TIL から CCR4 陽性細胞を除去した。（左図）CCR4 陽性細胞除去手順。（右図）CCR4 陽性細胞除去による PBMC および TIL の変化。CCR4 陽性細胞を除去することにより effector-Tregs が選択的に除去される。

そこで、我々はヒトTreg分類の中でもeffector-Tregsに焦点を当て、その選択的発現分子の探索を試みた。多数の候補分子から、ケモカイン受容体の一種であるCCR4がeffector-Tregsに高発現していることを見出した[3)]。これはPBMCおよびTIL中のeffector-Tregsに共通であった（図2）。そこで、抗ヒトCCR4抗体と磁気ビーズを用い、CCR4を標的としたeffector-Tregsの除去を試みたところ、PBMCおよびTIL中のeffector-Tregsが選択的に除去された。この時、PBMCにおいてeffector-Tregsは除去されるがnaïve-Tregsは除去されなかったことから、CCR4を標的とするTreg除去法ではnaïve-Tregsの残存による自己免疫疾患発症抑制につながると考えている（図3）。近年、CCR4と同様に、effector-Tregsの選択的分子マーカーとして糖鎖の一種であるCD15sが見出されている[5)]。このように、FOXP3陽性の全Tregsを標的とするのではなく、抑制活性の強いeffector-Tregsを選択的に除去することでがん免疫治療の効果を増強できる可能性がある。さらに、がん腫ごとの腫瘍浸潤Tregsを解析し、それぞれのTregsに選択的な発現分子を見出すことで、がん免疫療法の個別化医療を実現できる可能性がある。

## がん抗原特異的CD8$^+$ T cellsの解析

ヒトTreg分類のように、免疫担当細胞の解析にマルチカラーフローサイトメーターを用いることで、一度に多くの情報を得ることができる。細胞表面発現分子の検出はもちろんのこと、細胞内局在分子や液性因子も解析可能である。近年では、これらに加えリン酸化シグナル伝達分子をフローサイトメーターによる解析が増えてきている。我々は、がん患者におけるがん抗原特異的免疫応答をフローサイトメーターにて解析している。主に2通りの解析方法を用いており、1つはMHCテトラマーを用いる解析法であり、もう1つはTCRエピトープペプチド刺激による抗原特異的サイトカイン産生解析法である。ここではCD8$^+$ T cellsの解析について記載する。

CD8$^+$ T cellsに対応するMHCテトラマーはHLA-A、B、Cを元に作成されているが、製品として最も多いのはHLA-Aに関するテトラマーである。我々はこれまでにがん・精巣抗原であるNY-ESO-1に対するテトラマーを用いた解析をおこなってきた。NY-ESO-1は抗原性が高く、NY-ESO-1テトラマーに非常に強く反応する特異的CD8$^+$ T cellsが存在する。NY-ESO-1テトラマーの中でも、HLA-A*0201（p157-

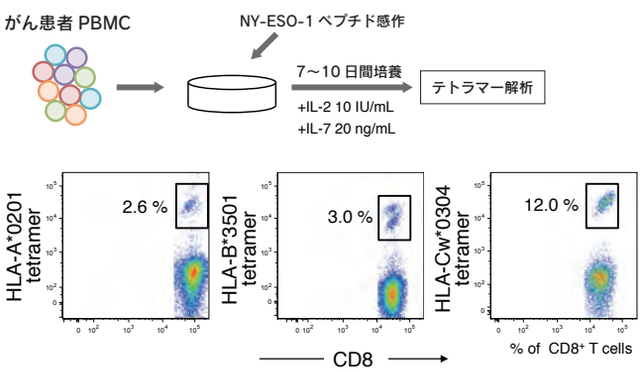



**図4. がん抗原特異的CD8$^+$ T cellsのテトラマー解析**

悪性黒色腫患者のPBMCからNY-ESO-1特異的CD8$^+$ T cellsを誘導した。（上図）特異的CD8$^+$ T cellsの誘導法。PBMCにNY-ESO-1ペプチドを感作し、サイトカイン存在下で7～10日間培養した。（下図）誘導したCD8$^+$ T cellsのテトラマー解析。それぞれHLA-A*0201、B*3501、Cw*0304に対応するNY-ESO-1テトラマーを用いて解析した。いずれのHLAでもNY-ESO-1特異的CD8$^+$ T cellsを検出することができた。

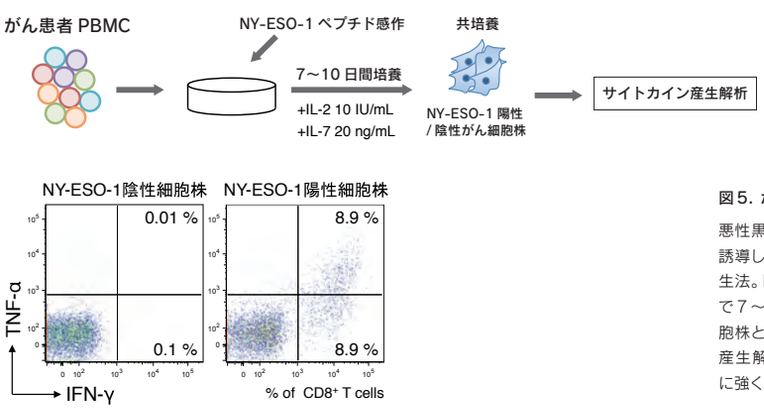



**図5. がん抗原特異的CD8$^+$ T cellsのサイトカイン産生解析**

悪性黒色腫患者のPBMCからNY-ESO-1特異的CD8$^+$ T cellsを誘導した。（上図）特異的CD8$^+$ T cellsの誘導法とサイトカイン産生法。PBMCにNY-ESO-1ペプチドを感作し、サイトカイン存在下で7～10日間培養し、培養細胞をNY-ESO-1陽性／陰性がん細胞株と共培養した。（下図）誘導したCD8$^+$ T cellsのサイトカイン産生解析。誘導したCD8$^+$ T cellsはNY-ESO-1陽性がん細胞株に強く反応した。

165; SLLMWITQC)、HLA-B*3501 (p94-102; MPFATPMEA)、HLA-Cw*0304 (p92-100; LAMPFATPM) が強い反応性を示す。抗原特異的 CD8$^+$ T cells の解析は一週間程度の *in vitro* 培養系にて誘導したものをサンプルとしている。*Ex vivo* にてテトラマー解析をすることは可能だが、PBMC 中の特異的 CD8$^+$ T cells の割合は非常に少ないため、抗原ペプチドを用いた刺激誘導により特異的 CD8$^+$ T cells の検出量を増大することができる。誘導方法は様々だが、我々は PBMC のままで誘導培養する手法を用いている。PBMC には CD8$^+$ T cells の他に抗原提示細胞 (APCs) も含まれるため、PBMC に抗原ペプチドを加えることで APCs による CD8$^+$ T cells への抗原提示が可能となる。この培養系により PBMC を 7 ～ 10 日間培養し、細胞を回収後、テトラマー染色とフローサイトメーター解析をおこなう。強い抗がん免疫活性をもつがん患者ではテトラマーで検出できる CD8$^+$ T cells の割合が高くなる。またテトラマー染色を発展させることで、テトラマー陽性／陰性の細胞群における発現分子の違いを見出すことが可能である (図 4)。

次にサイトカイン産生解析について記載する。サイトカイン産生をフローサイトメーターにて解析する際、細胞培養と細胞内染色が重要になる。一般的な方法として、T cells を刺激しサイトカインを放出するタイミングで Brefeldin や Monensin といった細胞内タンパク質輸送阻害薬を作用させることで、産生されたサイトカインが細胞外に放出されず細胞内に留まる。培養後、回収した細胞に穴を空け、ホルムアルデヒドによる細胞固定をおこなう。この処理により細胞膜に孔が生じるため、サイトカイン抗体がその孔を介して細胞内に入り目的のサイトカインと反応する。これをフローサイトメーター解析することで、細胞が産生するサイトカインを検出することができる。我々はテトラマー解析と同様に抗原特異的 CD8$^+$ T cells を誘導した後、回収した細胞と NY-ESO-1 発現／非発現のヒトがん細胞株と反応させ、サイトカイン産生を解析した。その結果、誘導した CD8$^+$ T cells は NY-ESO-1 陽性がん細胞株に強い反応性を示し、活性化サイトカインを産生することが確認できた (図 5)。

## おわりに

がん免疫研究の急速な発展により、がん免疫療法ががん患者に対する標準治療となりつつある。研究の発展と共に、ヒト検体を用いた研究成果も多数報告されるようになっている。とりわけ、免疫治療後の患者検体を用いた研究成果は高く評価されており、その研究手法も whole exome 解析から TCR repertoire 解析といった新しい手法が導入されている。テトラマー解析においても、マスサイトメーターを用いたテトラマー多重染色による抗原特異的 T 細胞の検出法も報告されている。今後は、これまでのがん免疫応答解析技術に加え、新たな技術を取り入れることで、がん免疫研究の更なる発展が期待できると考えられる。

## ● 参考文献


1) 杉山大介，西川博嘉.「がん免疫療法：基礎研究から臨床応用にむけて」領域融合レビュー，4, e005，2015.
2) Nishikawa H, Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. Curr Opin Immunol, 27, 1-7, 2014.
3) Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, *et al*. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4$^+$ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. Immunity 30: 899-911, 2009.
4) Sugiyama D, Nishikawa H, Maeda Y, *et al*. Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3$^+$CD4$^+$ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans. Proc Natl Acad Sci 110: 17945-17950, 2013.
5) Miyara M, Chader D, Sage E, *et al*. Sialyl Lewis x (CD15s) identifies highly differentiated and most suppressive FOXP3$^{high}$ regulatory T cells in humans. Proc Natl Acad Sci 112: 7225-7230, 2015.

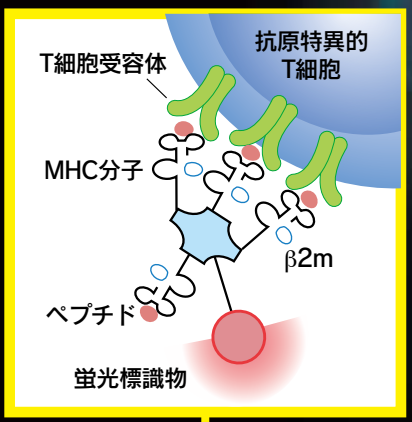
# 抗原特異的 T 細胞を特異的に検出できます

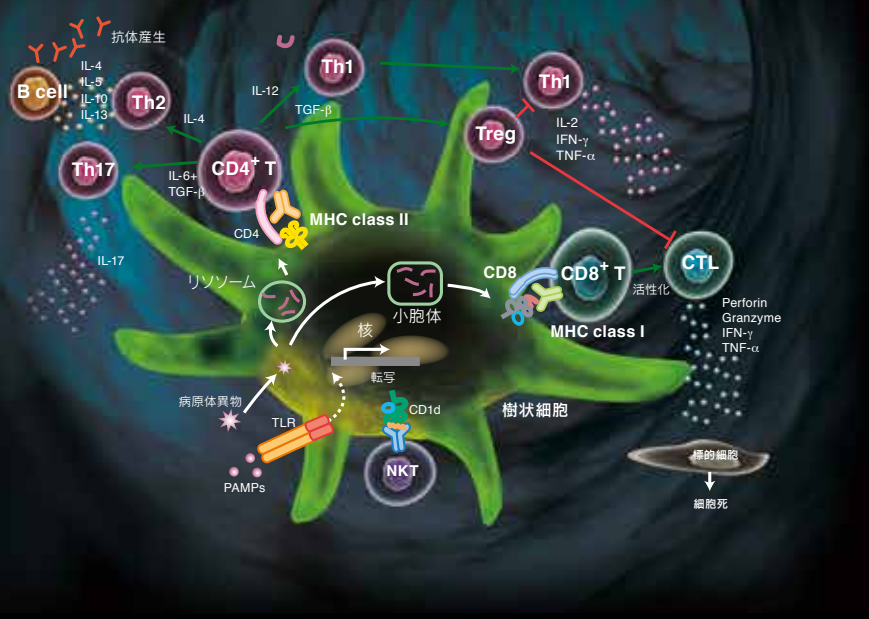
# T-Select MHC Tetramer

T細胞上に発現しているT 細胞受容体（T-cell receptor, TCR）は、MHC 分子とペプチド断片の複合体（MHC-peptide Complex）を特異的に認識して結合します。1996 年、Altman らは MHC Tetramer 試薬を用いて、これらの抗原特異的 T 細胞をフローサイトメトリーにより 1 個ずつ検出することに成功しました。MHC Tetramer 試薬は、これまでサイトカインの産生や細胞傷害性活性の確認などで間接的にしか捉えることができなかった抗原特異的 T 細胞を直接的に検出することを可能にしただけでなく、抗原特異的 T 細胞の分離にも利用できるため、抗原特異的 T 細胞の機能やフェノタイプ等の詳細な解析を可能にしました。

MBL は、MHC Tetramer 試薬が感染症やがんワクチン療法のみならず、細胞免疫療法、移植免疫、自己免疫疾患などの基礎および臨床研究にも広く利用される事を目指し、体外診断薬医薬品としての可能性も視野に入れて事業を発展させていきたいと考えております。

## MHCテトラマー




## MHCテトラマー製品

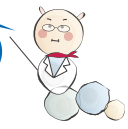
- **Human Class I**
  がん関連、ウイルス・バクテリアなど
- **Mouse Class I**
  がん関連、ウイルス・モデル抗原など
- **Human Class II**
  ウイルスなど
- **Mouse Class II**
  モデル抗原MOG、OVAなど
- **CD1d**
  ヒト、マウス
- **HLA-E**
- **その他動物 Class I**
  アカゲザル、ニワトリなど

## 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）

ご希望のアリル※とペプチドが
複合体（MHC-peptide Complex）を
作るかどうか調べるサービスです



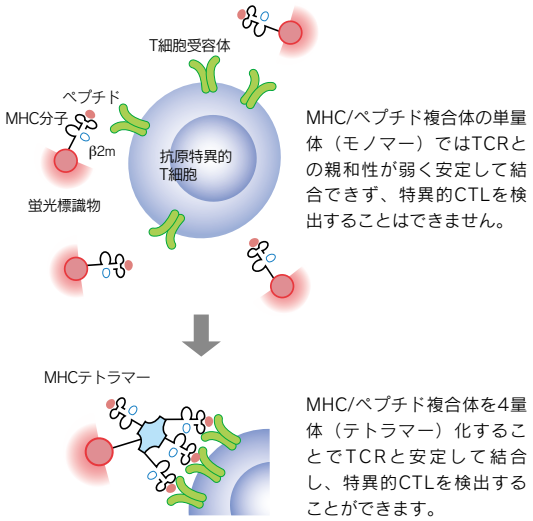
- **Folding Test Service (FTS)**

※弊社にて対応できないアリルもございます。
p.9の対応可能なアリル一覧表をご覧下さい。

## 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。

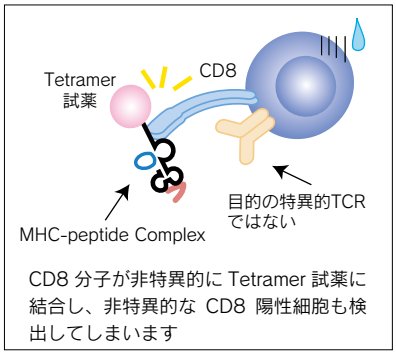


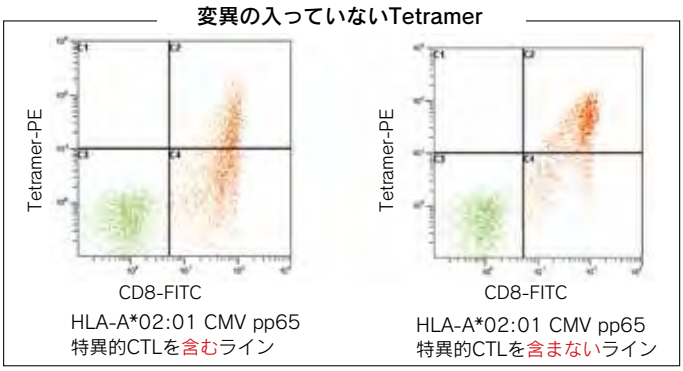

## T-Select HLA class I Tetramerの高い特異性

CD8 分子は、生体内において HLA と CTL の結合を補佐することが知られています。そのため、HLA 分子には CD8 分子と結合する部位が存在します。T-Select HLA class I Tetramer は、CD8 分子と非特異的に結合する HLA 分子の α3 ドメイン内の1箇所に変異を入れています。これにより、CD8 分子とテトラマー試薬の非特異的な結合が抑制され、特異性が飛躍的に向上しました。

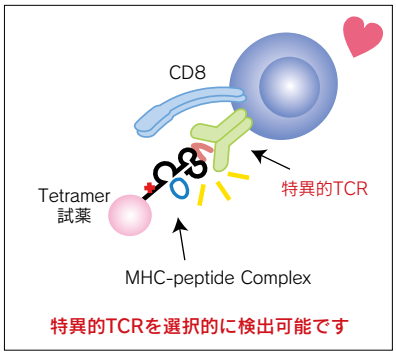
(French Application Number; FR9911133)

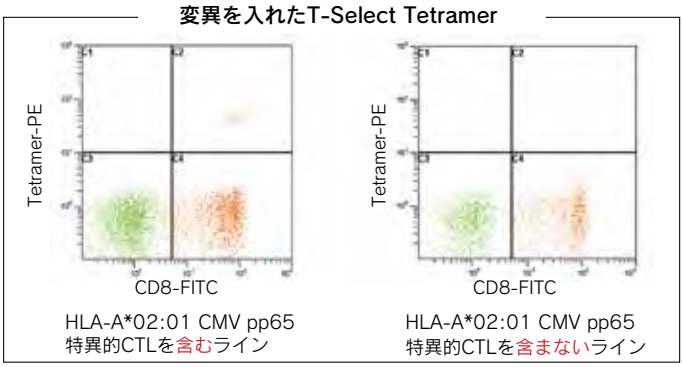
**非特異結合部位に変異が入っていない場合**




**非特異結合部位に変異が入っている場合**




製品の詳細は MBL ライフサイエンスサイトでご覧下さい。
製品ピックアップ情報　ウェブページ ID【903】
http://ruo.mbl.co.jp/product/allergy-Immunology/mhctetramer.html

**関連カタログ**
「T-Select MHC Tetramer ver.5」
Web ページ ID【010】

受託

免疫 >>MHC テトラマー

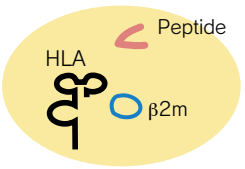
## 多数のペプチド候補をお持ちの方におススメです

# MHC class I Folding Test Service (FTS)

MHC Tetramer を作製する際に、MHC 分子と特定のペプチド断片が複合体（MHC-peptide Complex: monomer）を形成するか否かはとても重要なファクターです。ある特定タンパク質のどの部分がペプチド断片となって、MHC との複合体を形成するか決定するのは簡単ではなく、場合によっては多数のペプチド候補が出てくる事があります。

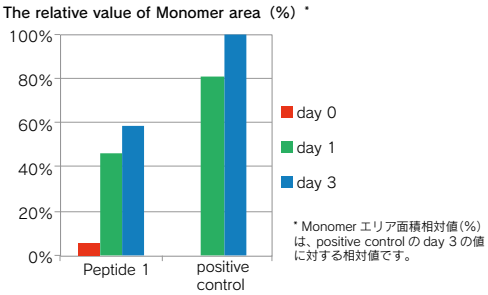
弊社のこれまでの MHC Class I テトラマーカスタムサービスでは、フォールディング反応で Monomer がほとんど形成されない場合には作業終了となっていました。そういった場合に備えて、本サービスでは、あらかじめ複数のペプチド /MHC の組み合わせについて、Monomer 形成の可否を調べる事ができます（フォールディングテスト）。*In silico* による解析手法と異なり、実際にスモールスケールにおいてフォールディング反応を行い Monomer 形成の可否を決定するため、高い確率で MHC Tetramer 作製の可否を判定できます。

Folding Test Service（FTS）は小スケールでフォールディング 反応を行い、経時的にサンプルを HPLC 分析し、Monomer 形成量を確認します。Peptide 1 の場合、Monomer 形成量は positive control より少ないものの、day 0 から day 3 にかけて Monomer 形成量が増加しており、Monomer 形成可能と予測されます。




Small-scale folding reaction

HPLC 分析




テスト結果を詳細な報告書にまとめ、お返しいたします。

報告書の一部

【TSXXX-XXZ Folding test結果】

| 受託番号（Lot） | Allele | Peptide | Monomer形成予測 |
|---|---|---|---|
| TSXXX | HLA-A*02:01 | AAAAAAAAA | 可能 |
| TSXXY | HLA-A*03:01 | BBBBBBBB | 不可 |
| TSXXZ | HLA-A*24:02 | CCCCCCCCC | 可能 |

- TSXXXはday 0からday 3にかけて、positive controlと同様のMonomer形成量を示し、Monomer形成可能と予測されます。
- TSXXYはday0からday 3にかけて、negative controlと同程度のわずかなMonomer形成量しかなく、Monomer形成不可と予測されます。

※Monomer 形成可能と判断されたものは、高い確率で Tetramer 試薬の作製が可能と考えられますが、安定性の低い Monomer が存在するため例外もございます。このため、Folding Test Service ではビオチン化反応以降の作業の成功は保証致しかねます。

## Folding Test Service (FTS) 価格　（ペプチド 1 件につき）

| | ペプチド合成料 | ＋ | フォールディング検討料 | ＝ FTS 費用（合計・税別） | 報告書納期目安 |
|---|---|---|---|---|---|
| ペプチドご提供（1 mg 以上）※1 | | | ¥50,000 | ¥50,000 | 2 週間 |
| ペプチド合成料込（約 20 mg）※2 | ¥50,000 | ＋ | ¥50,000 | ¥100,000 | 6 週間 |

※ 1　FTS に必要なペプチド量は 1 mg 以上です（純度 90% 以上を推奨）。
※ 2　弊社のカスタムテトラマーと同様に、20 mg のペプチド合成を合わせてご依頼いただきますと、FTS 後にテトラマー作製に進む場合に、最も低コストでテトラマーの納期も短くなります。もし、FTS 後にテトラマー作製に進まない場合は、残りのペプチドを返却致します。

対応可能なアリルは次ページにて紹介しております

製品の詳細は MBL ライフサイエンスサイトでご覧下さい。
製品ピックアップ情報　ウェブページ ID【009】
http://ruo.mbl.co.jp/product/allergy-Immunology/custom_tetramer.html

受託

免疫 >>MHC テトラマー

## ご希望のテトラマーを作製できます

# MHC class I custom Tetramer

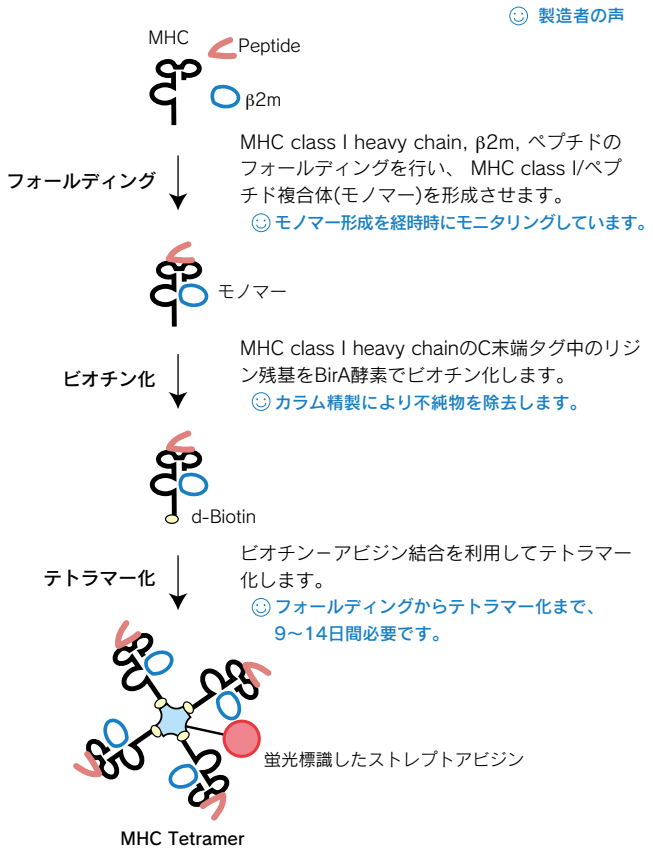
## 対応可能なアリル

| HLA-A | HLA-B | HLA-C |
|---|---|---|
| A*01:01 | B*07:02 | Cw*01:02 |
| A*02:01 | B*08:01 | Cw*03:03 |
| A*02:06 | B*15:01 | Cw*03:04 |
| A*02:07 | NEW! B*15:02 | Cw*04:01 |
| A*03:01 | B*27:05 | Cw*08:01 |
| A*11:01 | B*35:01 | Cw*12:02 |
| NEW! A*23:01 | B*40:01 | Cw*15:02 |
| A*24:02 | B*40:02 | |
| A*26:01 | B*40:06 | **HLA-E** |
| NEW! A*29:02 | NEW! B*42:01 | NEW! E*01:01 |
| A*31:01 | B*51:01 | NEW! E*01:03 |
| | B*52:01 | |
| | B*54:01 | |
| | B*57:01 | |

| Mouse | Chicken | Rhesus Macaque |
|---|---|---|
| H-2K$^b$ | NEW! BF2*1201 | Mamu-A*01 |
| H-2K$^d$ | NEW! BF2*1501 | |
| H-2D$^b$ | | |
| H-2D$^d$ | | |
| H-2D$^k$ | | |
| H-2L$^d$ | | |
| H-2K$^K$ | | |
| A2K$^b$(キメラ) | | |
| A24K$^b$(キメラ) | | |

青字のアリルに関しましては
別途お問い合わせください。

## 作業のながれ




## カスタム作製例 (50 tests)

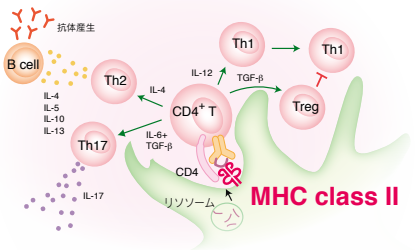
| | ペプチド合成料 | + | フォールディング検討料 | + | テトラマー化 | = カスタム作製費用（合計・税別） | 納期目安 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ペプチドご提供（20 mg 以上）※1 | | | ￥50,000 | + | ￥200,000 | ￥250,000 | 4 週間 |
| ペプチド合成料込（約 20 mg）※2 | ￥50,000 | + | ￥50,000 | + | ￥200,000 | ￥300,000 | 8 週間 |
| 2 回目以降の同配列カスタム作製※2 | | | | | ￥200,000 | ￥200,000 | 2 週間 |

※1　ペプチドをご提供いただく場合、純度 90%以上のペプチドが 20 mg 必要です。
※2　フォールディング検討料とは、MHC とペプチド配列の親和性により MHC Class I/ ペプチド複合体（モノマー）の形成が可能であるかを検討するためにかかる費用です。2 回目以降の同配列カスタム作製ご注文時には、フォールディング検討料は発生しません。

## 関連製品

MHC Class II Custom tetramer サービスもあります！
詳細は MBL ライフサイエンスサイトからご覧下さい。

ウェブページ ID【009】
http://ruo.mbl.co.jp/product/allergy-Immunology/custom_tetramer.html



新製品

免疫 >>MHC テトラマー

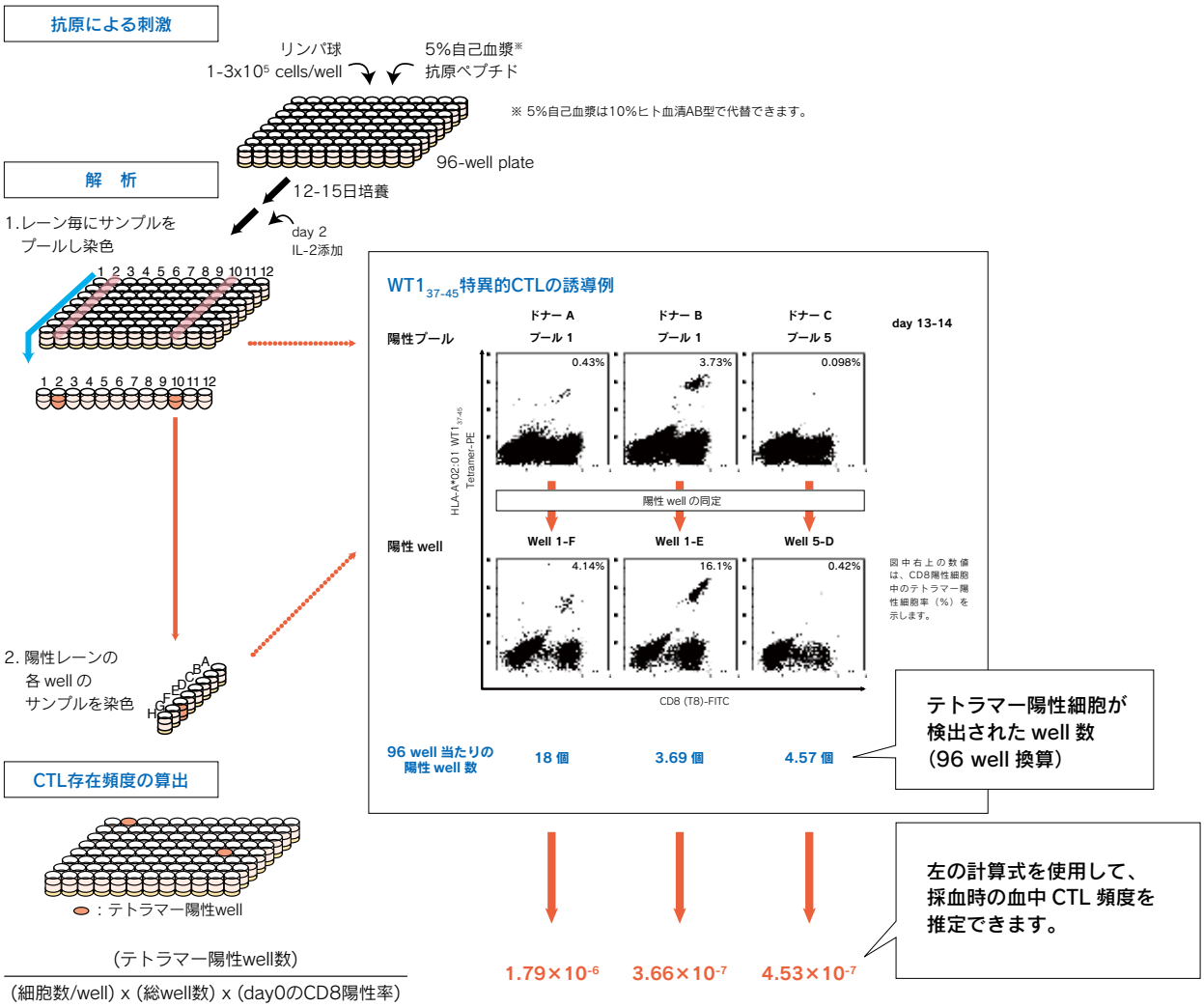
# がん抗原、ウイルスなど多様な抗原を新発売！！
# MHC Class I Tetramer

## トピックス

### HLA-A*02:01 WT1$_{37\text{-}45}$ Tetramer を用いた、特異的 CTL の誘導と検出

Wilms 腫瘍因子 WT1 は免疫療法のターゲット分子として注目されているがん抗原のひとつです。WT1 は、細胞の増殖・分化に関連した遺伝子の転写を制御する転写因子です。WT1 遺伝子は、白血病や種々の固形癌で高発現しており、その発症、進行に関与することが知られています。WT1 特異的 CTL は、WT1 発現量の高いがん細胞を傷害し、正常細胞は傷害しないことが示されており、既に WT1 を用いた臨床試験が開始されています。

ウイルス抗原と異なり、がん抗原特異的 CTL の数は非常に少なく、採血直後に検出することが非常に難しい場合が多いと考えられます。そこで、短期間のペプチド刺激培養後に、がん抗原特異的 CTL の血中頻度を算出する方法として考案されたのが 96-well plate を利用した MLPC 法（Mixed Lymphocyte-Peptide Cultures）です。以下に WT1$_{37\text{-}45}$ 特異的 CTL の誘導と血中頻度算出例を示しました。 購入した健常人由来 HLA-A*02:01 陽性末梢血単核球（PBMC）より 96-well MLPC 法にて誘導しました。ペプチド刺激後、13-14 日目に HLA-A*02:01 WT1$_{37\text{-}45}$ Tetramer（Code No. TS-M140-1）で染色を行いました。まず 96-well plate の 1 つのレーン毎にサンプルを 8 well 分プールし、12 プールをそれぞれ染色しました。次に、テトラマー陽性細胞が検出されたレーンから 1 well ずつサンプリングを行い、テトラマー試薬で染色して特異的 CTL が存在している well を同定しました。詳細は製品データシートをご参照ください。



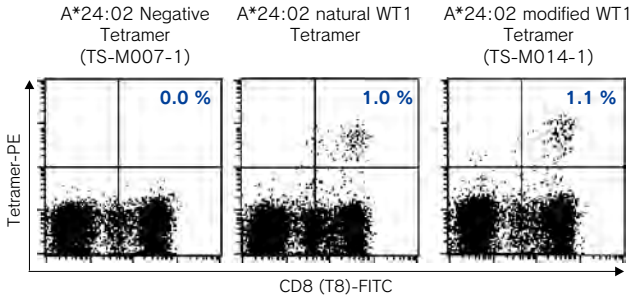
# 製品リスト

## Wilms 腫瘍因子 WT1

| | 抗原名 | MHC | 配列 | 位置 (aa) | PE 標識 50 tests | 価格（税別） | APC 標識 50 tests | 価格（税別） | 誘導用ペプチド 100 μL (10 mg/mL) | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| New ! | $WT1_{37-45}$ | A*02 : 01 | VLDFAPPGA | 37-45 | TS-M140-1 | ¥148,000 | TS-M140-2 | ¥148,000 | TS-M140-P | ¥15,000 |
| | $WT1_{126-134}$ | A*02 : 01 | RMFPNAPYL | 126-134 | TS-M016-1 | ¥148,000 | TS-M016-2 | ¥148,000 | — | — |
| | modified WT1 | A*24 : 02 | CYTWNQMNL | 235-243 | TS-M014-1 | ¥148,000 | TS-M014-2 | ¥148,000 | — | — |
| | $WT1_{126-134}$ | H-2D$^b$ | RMFPNAPYL | 126-134 | TS-M504-1 | ¥98,000 | TS-M504-2 | ¥98,000 | — | — |

### HLA-A*24:02 modified WT1 Tetramer (TS-M014-1)

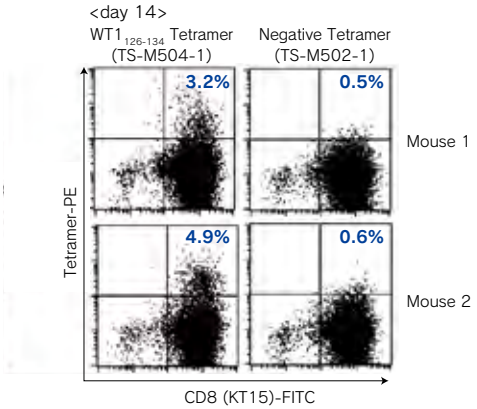
HLA-A*24:02 陽性健常人末梢血より PBMC を分離し、MLPC 法にて modified WT1 特異的 CTL を誘導してテトラマー試薬により染色しました。図は左から、T-Select HLA-A*24:02 Negative Tetramer, HLA-A*24:02 natural WT1 Tetramer, HLA-A*24:02 modified WT1 Tetramer による染色像です。




※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。

### H-2D$^b$ $WT1_{126-134}$ Tetramer (TS-M504-1)

C57BL/6 マウス 2 個体にペプチド免疫後、脾細胞を取り出し、培養と特異的 CTL の誘導を行いテトラマー試薬により染色を行いました。




## がん関連

| | 抗原名 | MHC | 配列 | 位置 (aa) | PE 標識 50 tests | 価格（税別） | APC 標識 50 tests | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| New ! | AIM-2 | HLA-A*01:01 | RSDSGQQARY | — | TS-M137-1 | ¥148,000 | TS-M137-2 | ¥148,000 |
| New ! | MAGE-C1 | HLA-A*02:01 | ILFGISLREV | 959-968 | TS-M138-1 | ¥148,000 | TS-M138-2 | ¥148,000 |
| New ! | ACC-1 (BCL2A1) | HLA-A*24:02 | DYLQYVLQI | 15-23 | TS-M141-1 | ¥148,000 | TS-M141-2 | ¥148,000 |
| New ! | PSA (human) | H-2D$^b$ | HCIRNKSVIL | 65-74 | TS-M561-1 | ¥98,000 | TS-M561-2 | ¥98,000 |
| New ! | TERT (mouse) | H-2K$^b$ | VGRNFTNL | 198-205 | TS-M562-1 | ¥98,000 | TS-M562-2 | ¥98,000 |
| New ! | pBM1 (KCTD20) | H-2K$^b$ | INFDFNTI | 207-214 | TS-M563-1 | ¥98,000 | TS-M563-2 | ¥98,000 |

## ウイルス

| | 抗原名 | MHC | 配列 | 位置 (aa) | PE 標識 50 tests | 価格（税別） | APC 標識 50 tests | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| New ! | HIV gag | HLA-A*02:01 | TLNAWVKVV | 19-27 | TS-M139-1 | ¥148,000 | TS-M139-2 | ¥148,000 |
| New ! | AdV5 E1A | H-2D$^b$ | SGPSNTPPEI | 234-243 | TS-M564-1 | ¥98,000 | TS-M564-2 | ¥98,000 |
| New ! | Influenza NS2 | H-2K$^b$ | RTFSFQLI | 114-121 | TS-M566-1 | ¥98,000 | TS-M566-2 | ¥98,000 |
| New ! | RSV M2 | H-2K$^d$ | SYIGINNI | — | TS-M567-1 | ¥98,000 | TS-M567-2 | ¥98,000 |
| New ! | MHV-68 (MuHV-4) M2 | H-2K$^d$ | GFNKLRSTL | 91-99 | TS-M568-1 | ¥98,000 | TS-M568-2 | ¥98,000 |

新製品

免疫 >>MHC テトラマー

# 新製品続々登場！！
# Human HLA Class II Tetramer

## Human CLIP$_{103\text{-}117}$ Tetramer

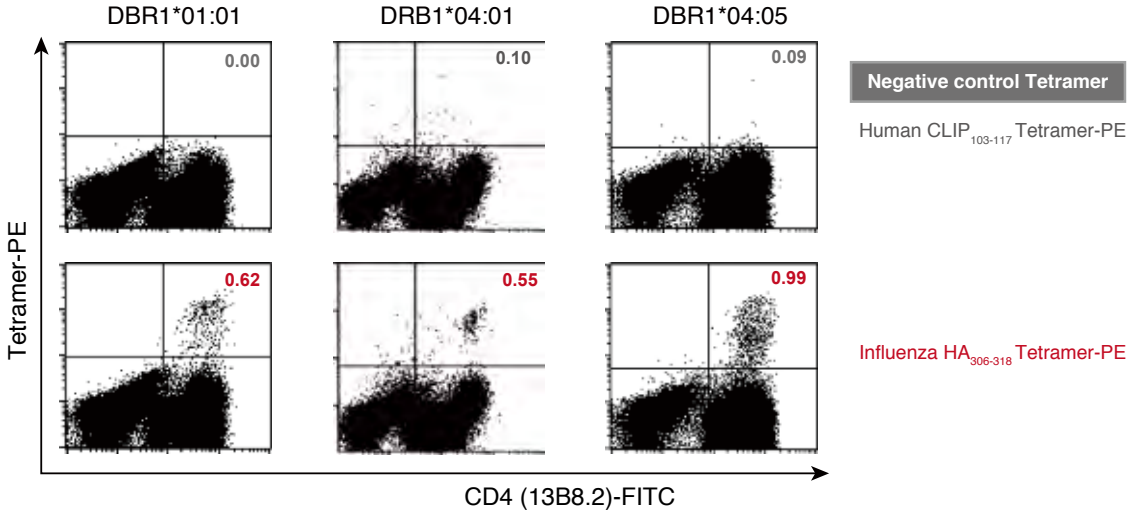
MHC Class II 分子はそれぞれ1回膜貫通タンパク質であるα鎖とβ鎖のヘテロ二量体を形成しますが、翻訳後、小胞体内でシャペロンタンパク質であるインバリアント鎖 Ii（human class II associated Invariant chain）と複合体を形成します。

CLIP はこの Ii の一部分であり、Endosomal/lysosomal peptide-loading compartment と呼ばれる後期エンドソーム様細胞内小胞に Class II 分子が運ばれた際、MHC Class II の抗原結合部位が CLIP で物理的に塞がれることにより、小胞体やエンドソームに存在する内在性のペプチドが輸送過程で MHC Class II 分子に結合するのを防ぐ役割があります。

Human CLIP$_{103\text{-}117}$ Tetramer は、これに反応する CD4 陽性 T 細胞がほとんどいないと考えられるため、Negative control Tetramer としてお使いいただけます。

## Influenza HA$_{306\text{-}318}$ Tetramer

インフルエンザウイルスの細胞感染に関与するヘマグルチニン (hemagglutinin, HA) をエピトープとするテトラマーを複数アリルで新発売しました。HA をエピトープとする T 細胞を特異的に検出することができます。




* 図中右上の数値はCD4陽性細胞中のテトラマー陽性細胞率（%）を示します。

## 製品リスト

| | 抗原名 | MHC | 配列 | 位置 (aa) | PE 標識 20 tests | 価格（税別） | APC 標識 20 tests | 価格（税別） | 誘導用ペプチド 100 μL (10 mg/mL) | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | HIV gag$_{295\text{-}307}$ | DRB1*01:01 | DYVDRFYKTLRAE | 295-307 | TS-M802-1 | ¥180,000 | TS-M802-2 | ¥180,000 | TS-M802-P | ¥15,000 |
| | EBV EBNA1$_{515\text{-}527}$ | DRB1*01:01 | TSLYNLRRGTALA | 515-527 | TS-M803-1 | ¥180,000 | TS-M803-2 | ¥180,000 | TS-M803-P | ¥15,000 |
| New ! | Influenza HA$_{306\text{-}318}$ | DRB1*01:01 | PKYVKQNTLKLAT | 306-318 | TS-M804-1 | ¥180,000 | TS-M804-2 | ¥180,000 | TS-M804-P | ¥15,000 |
| New ! | Human CLIP$_{103\text{-}117}$ | DRB1*01:01 | PVSKMRMATPLLMQA | 103-117 | TS-M801-1 | ¥180,000 | TS-M801-2 | ¥180,000 | TS-M801-P | ¥15,000 |
| New ! | Influenza HA$_{306\text{-}318}$ | DRB1*04:05 | PKYVKQNTLKLAT | 306-318 | TS-M806-1 | ¥180,000 | TS-M806-2 | ¥180,000 | — | — |
| New ! | Human CLIP$_{103\text{-}117}$ | DRB1*04:05 | PVSKMRMATPLLMQA | 103-117 | TS-M805-1 | ¥180,000 | TS-M805-2 | ¥180,000 | — | — |
| New ! | Influenza HA$_{306\text{-}318}$ | DRB1*04:01 | PKYVKQNTLKLAT | 306-318 | TS-M810-1 | ¥180,000 | TS-M810-2 | ¥180,000 | — | — |
| New ! | Human CLIP$_{103\text{-}117}$ | DRB1*04:01 | PVSKMRMATPLLMQA | 103-117 | TS-M809-1 | ¥180,000 | TS-M809-2 | ¥180,000 | — | — |

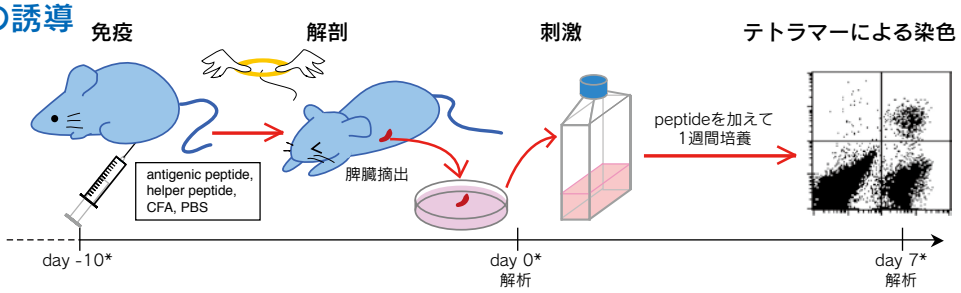
売れています　免疫 >>MHC テトラマー

# マウスモデルにおけるテトラマー試薬の利用

## 抗原特異的マウスT細胞の誘導

マウスモデルは感染実験、ワクチンの開発、免疫療法の検討など、生体内のさまざまな免疫応答の観察に使用されています。

T-Select Mouse MHC Tetramer は、マウスの抗原特異的 T 細胞を検出することができます。MBL 社内検討の結果、右図方法で、より早く安価で簡単に抗原特異的 CTL を誘導可能であることが分かりました。詳細は各テトラマー製品のデータシートをご覧ください。



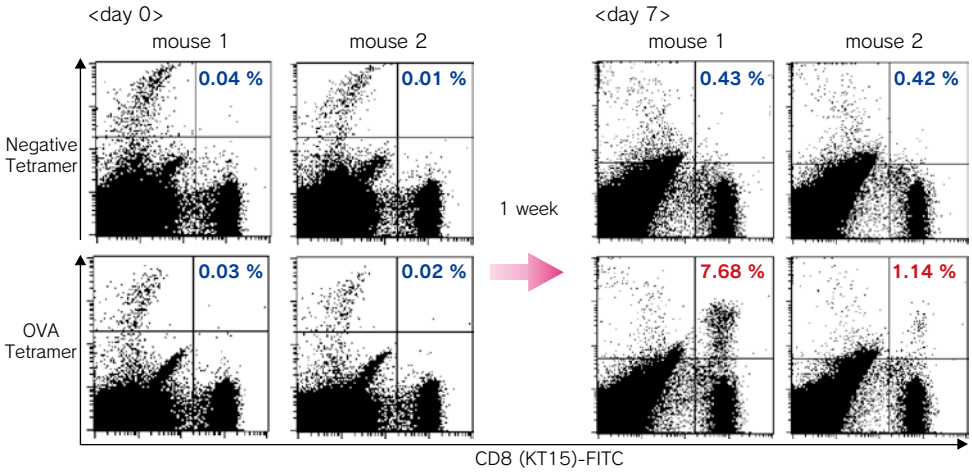

*あくまで１つの目安です。正確なプロトコルは各製品のデータシートを参照ください。

## H-2K$^b$ OVA Tetramer

### T-Select H-2K$^b$ OVA Tetramer (TS-5001-1C, 2C)

C57BL/6 マウス脾細胞 (2 個体 ) の、T-Select H-2K$^b$ OVA Tetramer (Code No. TS-5001-1C) による染色像です。図中右上の数値はそれぞれ CD8 陽性細胞中の Tetramer 陽性細胞率 (%) を示します。

H-2K$^b$ 拘束性 OVA 由来の抗原ペプチドとヘルパー作用の報告がある抗原ペプチドを混合し、免疫賦活剤とエマルジョン化し、C57BL/6 マウス 2 個体に腹腔免疫しました。10 日後に脾臓を摘出し、脾細胞を調製後、一部をサンプリングして MHC Tetramer 試薬を用いて染色しました (右図 day 0)。これらの脾細胞は *in vitro* において OVA ペプチドパルスした別の同種個体の脾細胞と 1 週間混合培養しました。これを同様に MHC Tetramer 試薬を用いて染色しました (右図 day 7)。




## 製品リスト

| 抗原名 | MHC | 配列 | 位置（aa） | PE 標識 50 tests | 価格（税別） | APC 標識 50 tests | 価格（税別） | 誘導用ペプチド 100 μL (10 mg/mL) | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 売れています！ OVA | H-2K$^b$ | SIINFEKL | 257-264 | TS-5001-1C | ¥98,000 | TS-5001-2C | ¥98,000 | TS-5001-P | ¥15,000 |
| OVA E1 | H-2K$^b$ | EIINFEKL | 257-264 | TS-M541-1 | ¥98,000 | TS-M541-2 | ¥98,000 | — | — |
| OVA G4 | H-2K$^b$ | SIIGFEKL | 257-264 | TS-M542-1 | ¥98,000 | TS-M542-2 | ¥98,000 | — | — |
| OVA Q4H7 | H-2K$^b$ | SIIQFEHL | 257-264 | TS-M543-1 | ¥98,000 | TS-M543-2 | ¥98,000 | — | — |

製品の詳細は MBL ライフサイエンスサイトでご覧下さい。
製品ピックアップ情報　ウェブページ ID【905】
http://ruo.mbl.co.jp/product/allergy-Immunology/classII.html

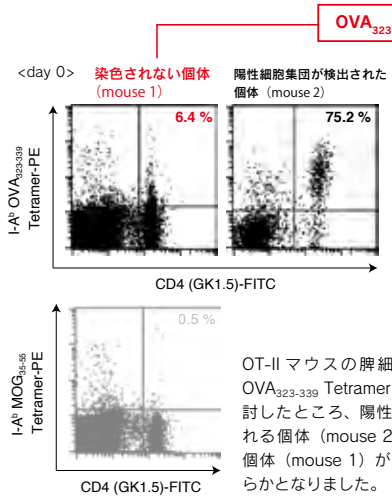
## I-A$^b$ OVA Tetramer

### T-Select I-A$^b$ OVA$_{323-339}$ Tetramer (TS-M710-1, 2)

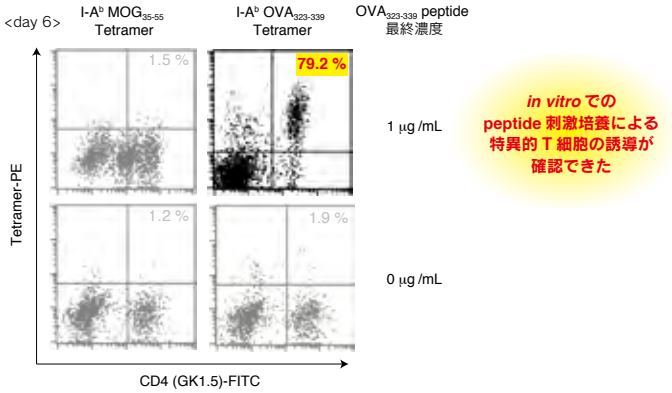
OVA は、多様な免疫反応を惹起させるモデル抗原として非常に多くの研究分野で利用されています。

I-A$^b$ に OVA$_{323-339}$ エピトープ(ISQAVHAAHAEINEAGR) が提示された MHC/peptide Complex を特異的に認識する TCR を持つトランスジェニックマウス (OT-II マウス) は、T 細胞の分化の過程や免疫応答などを解析するツールとして免疫学的研究に大きく貢献しています。

I-A$^b$ OVA$_{323-339}$ Tetramer は様々な実験系において重要なツールになることが期待されます。




OT-II マウスの脾細胞を用いて、I-A$^b$ OVA$_{323-339}$ Tetramer 試薬の反応性を検討したところ、陽性細胞集団が検出される個体（mouse 2）と染色されない個体（mouse 1）が存在することが明らかとなりました。
mouse 1 に関しては、OVA$_{323-339}$ 特異的 TCR の発現レベルが低いと考えられたことから、peptide による特異的刺激により発現レベルを上げることができるかについて検証を行いました。




mouse 1の脾細胞に、最終濃度が1 μg/mLになるようにOVA$_{323-339}$ peptide（ISQAVHAAHAEINEAGR, Code No. TS-M703-P）を加えて、6日間培養後、MHC Tetramer試薬の反応性を検討しました。その結果、mouse 1において、*in vitro* peptide stimulationによる特異的T細胞の誘導が確認できました。
Negative controlとしてI-A$^b$ MOG$_{35-55}$ Tetramerを用いた場合は、陽性細胞は検出されませんでした。

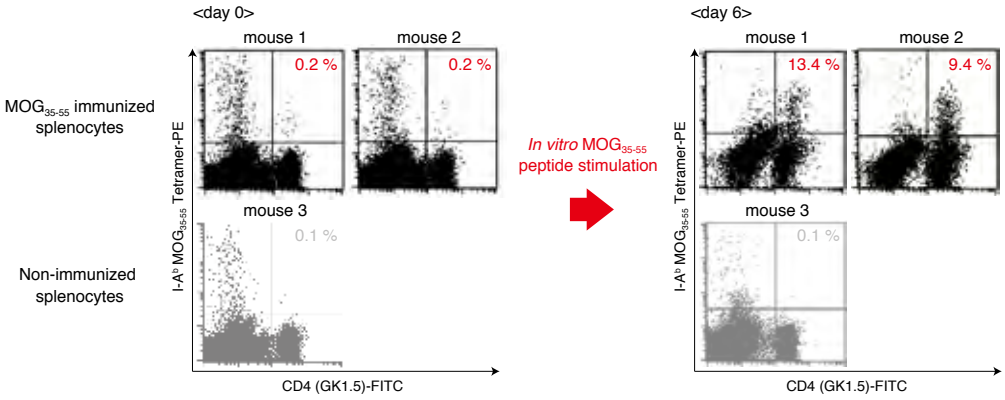
＊図中右上の数値は CD4 陽性細胞中のテトラマー陽性細胞率（%）を示します。

## I-A$^b$ MOG Tetramer

### T-Select I-A$^b$ MOG$_{35-55}$ Tetramer (TS-M704-1,2)

MOG$_{35-55}$ peptide は、多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) を引き起こすことが知られています。この方法では、MOG$_{35-55}$ peptide 免疫後早期に EAE の症状が現れること、必要な材料の入手が比較的容易であることから、自己免疫疾患のモデル実験系として広く使用されています。

EAE の発症には、regulatory T (Treg) 細胞や Th17 細胞などの関与が報告されており、CD4 陽性 T 細胞の免疫バランスが重要であることが示唆されています。




I-A$^b$ 拘束性の MOG$_{35-55}$ peptide (MEVGWYRSPF SRVVHLYRNGK, Code No. TS-M704-P) 100 nmol を、10 μg の cholera toxin (Code No. RK-01-511) および免疫賦活剤とエマルジョン化してマウスに 2 回腹腔免疫しました。11 日後に脾臓を摘出して脾細胞を調製後、一部をサンプリングして I-A$^b$ MOG$_{35-55}$ Tetramer-PE (Code No. TS-M704-1) を用いて染色しました (day 0)。これらの脾細胞は、*in vitro* において MOG$_{35-55}$ peptide（最終濃度 10 μg/mL）で 6 日間刺激培養しました。これを同様に MHC Tetramer 試薬を用いて染色しました (day 6)。 その結果、I-A$^b$ MOG$_{35-55}$ Tetramer 特異的な CD4 陽性 T 細胞を検出することができました。Negative control 細胞 (mouse 3) では、I-A$^b$ MOG$_{35-55}$ Tetramer 特異的な CD4 陽性 T 細胞は検出されませんでした。図中右上の数値は CD4 陽性細胞中のテトラマー陽性細胞率（%）を示します。

## 製品リスト

| | 抗原名 | MHC | 配列 | 位置（aa） | PE 標識 20 tests | 価格（税別） | APC 標識 20 tests | 価格（税別） | 誘導用ペプチド 100 μL (10 mg/mL) | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 売れています！ | MOG$_{35-55}$ | I-A$^b$ | MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK | 35-55 | TS-M704-1 | ¥180,000 | TS-M704-2 | ¥180,000 | TS-M704-P | ¥15,000 |
| | FMLV | I-A$^b$ | EPLTSLTPRCNTAWNRLKL | 123-141 | TS-M705-1 | ¥180,000 | お問い合わせください | | — | — |
| | Eα$_{52-68}$ | I-A$^b$ | ASFEAQGALANIAVDKA | 52-68 | TS-M706-1 | ¥180,000 | | | — | — |
| | ESAT-6 | I-A$^b$ | MTEQQWNFAGIEAAASAIQG | 1-20 | TS-M707-1 | ¥180,000 | | | TS-M707-P | ¥15,000 |
| 売れています！ | OVA | I-A$^b$ | ISQAVHAAHAEINEAGR | 323-339 | TS-M710-1 | ¥180,000 | TS-M710-2 | ¥180,000 | TS-M703-P | ¥15,000 |

新製品 免疫 >> がん >> キット

# HLA-A のアリルをより早く簡単に測定可能！
# RapiType HLA-A for East Asian Pop.

・低コストかつ短時間で判定結果が得られます。
・血液はもちろん口腔粘膜や唾液からも測定可能です。

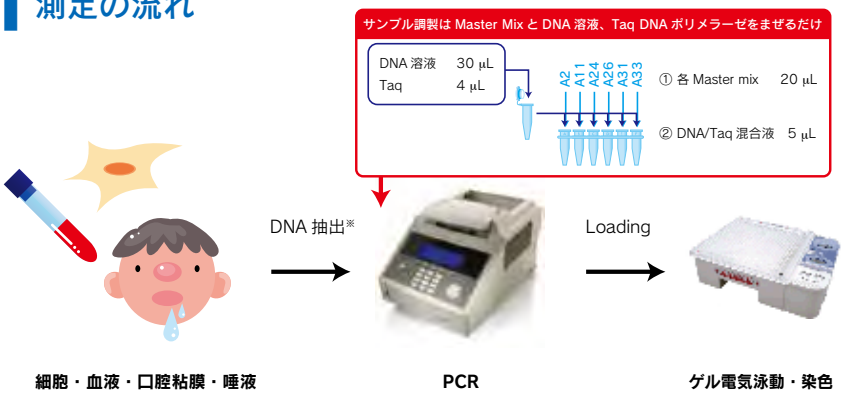
HLA( ヒト白血球抗原 ) は、従来、骨髄移植・臓器移植などの移植治療や、血小板輸血治療において、型の一致・不一致が生着率や治療効果に大きく関係していることが報告されてきました。さらに近年では、がん免疫療法などの免疫応答を利用した治療を行う上で、HLA タイピングは重要な位置付けになっています。一般に HLA 遺伝子型 ( アリル ) のタイピングには、判定可能な HLA 型数と解像度に優れた PCR-rSSO 法や SBT 法などが用いられますが、これらの検査法の実施には高価な機材が必要となります。

本試薬は、日本を含めた東アジア地域で見られる HLA-A の 6 型 (A*02, A*11, A*24, A*26, A*31, A*33 ；日本人全頻度 91.2% を優占 ) を SSP 法により、汎用機材のみで迅速かつ簡便にタイピングするために開発されました。

## 日本人のHLA-Aアリル頻度

| HLA-A | 日本人頻度 (%) |
|---|---|
| A*02 | 24.556 |
| A*11 | 9.221 |
| A*24 | 36.941 |
| A*26 | 4.538 |
| A*31 | 8.628 |
| A*33 | 7.344 |

## 測定の流れ




※ 本試薬に DNA 抽出試薬は含まれません。

## 判定例

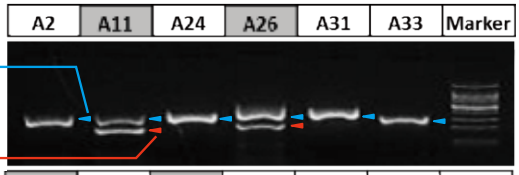
血液由来 DNA を試料とした判定例 ( 上段 ;A*11,A*26、下段 ;A*02,A*24) です。
泳動条件は、2.5% アガロースゲル , 100 V, 定電圧条件にて 30 分です。

すべての反応チューブにインターナルコントロールが含まれており、PCR 反応が正常に行われたか、判断することができます。

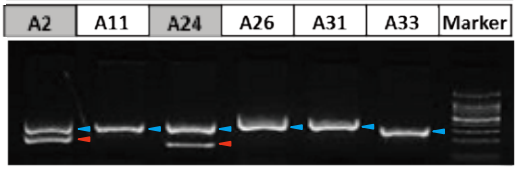
**結果判定**

陽性
標的バンドが見られる場合

| | 結果 | |
|---|---|---|
| インターナル コントロールバンド | + | − |
| 標的バンド | + | + |
| | 陽性 | 陽性 |




HLA-A
A*11, A*26
陽性




HLA-A
A*02, A*24
陽性

## 製品リスト

| Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| 4901 | RapiType HLA-A for East Asian Pop. | 20 tests | ¥50,000 |
| GS-J0201 | スマイテスト™ EX-R&D (DNA 抽出試薬 ) | 100 tests | ¥48,000 |

製品の詳細は MBL ライフサイエンスサイトでご覧下さい。
製品詳細情報　ウェブページ ID【904】　http://ruo.mbl.co.jp/product/allergy-Immunology/hla.html

注目！

免疫 >> キット

# 安全・確実に細胞傷害性活性を測定

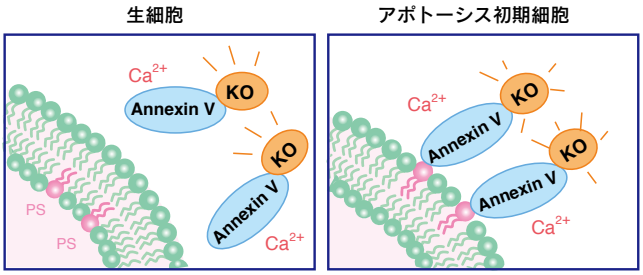
# IMMUNOCYTO Cytotoxicity Detection Kit

ウィルス感染細胞や腫瘍細胞などの細胞（Target 細胞）は、細胞傷害性活性を持つT 細胞や NK 細胞（Effector 細胞）により直接認識され、傷害が起こります。細胞傷害性活性を測定する方法として、放射性同位元素を使用した $^{51}$Cr 遊離試験（クロムリリースアッセイ）や傷害を受けた細胞から放出される細胞質酵素の活性（GOT, GPT, LDH）を測定する方法などが知られています。

IMMUNOCYTO Cytotoxicity Detection Kit（Code No. AM-1005M）は、Target 細胞を CFSE と Kusabira-Orange 標識 Annexin V で二重染色し、フローサトメトリーによって細胞傷害性活性を測定する試薬です。CFSE 染色された Target 細胞のうち、Annexin V 染色された細胞の割合、つまり死細胞の割合で、Effector 細胞の細胞傷害性活性を測定します。フローサイトメトリーで細胞を分離するので、Effector 細胞により誘導された死細胞を確実に分離し測定する事ができます。

## Annexin Vによるアポトーシス検出の原理

脂質二重層の内側に存在している phosphatidylserine（PS）は、アポトーシスをおこした細胞では、膜構造の変化により細胞表面に露出します（右図）。Annexin V は $Ca^{2+}$ 存在下で PS に対して強い親和性をもつため、アポトーシス細胞に結合します。 蛍光標識した Annexin V を用いる事で、Effector 細胞により傷害された Target 細胞をフローサイトメトリーにて検出することができます。 IMMUNOCYTO Cytotoxicity Detection Kit には、蛍光蛋白質 Kusabira-Orange（KO; Excitation Max 548 nm/Emission Max 559 nm）標識した Annexin V が含まれています。




生細胞のPSは細胞表面に露出していないので、Annexin Vとは結合しません。

アポトーシスを起こした細胞では、膜構造が壊れ、PSが細胞表面に露出して、Annexin Vと結合します。

## フローサイトメトリーによるデータ解析

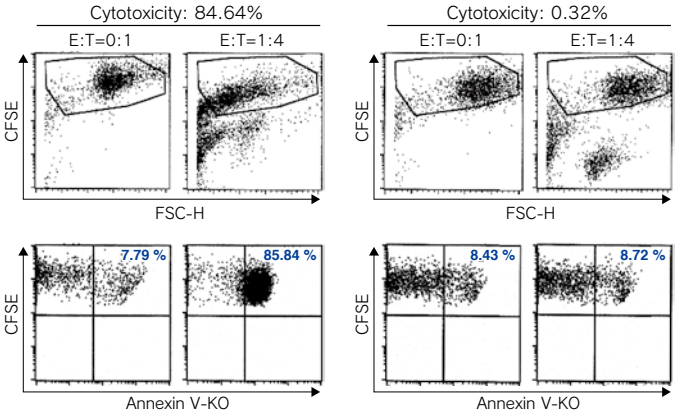
右図は、IMMUNOCYTO Cytotoxicity Detection Kit を用いて細胞傷害性活性を解析したデータです。Effector 細胞（E）、Target 細胞（T）は図の下に示した通りです。

Killing が起こると、CFSE 陽性である Target 細胞が Annexin V 陽性になることが分かります。この数値（%）を用いて、細胞傷害性活性を下記の式を用いて数値化することができます。

$$\text{Cytotoxicity}(\%)=[(ET-T_0)/(100-T_0)] \times 100$$

ET: Effector 細胞と Target 細胞を共培養したときの、
$CFSE^+$ $Annexin\ V^+$ 細胞の割合（%）

$T_0$: Target 細胞のみを培養したときの、
$CFSE^+$ $Annexin\ V^+$ 細胞の割合（%）



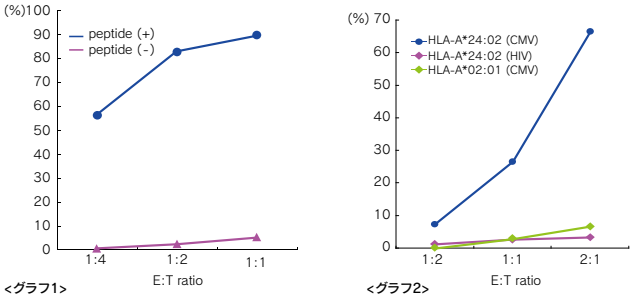

E: A*24:02 EBV BRLF1 CTL line
T: BRLF1 peptide pulsed HLA-A24 LCL

E: A*24:02 EBV BRLF1 CTL line
T: HLA-A2 LCL

## 細胞傷害性活性を示すグラフ

HLA-A*24:02 CMV pp65 CTL line による細胞傷害性活性のグラフ 2 例を右に示します。

データは、<フローサイトメトリーによるデータ解析>に記載した解析法で解析しました。




<グラフ1>
Effector cells: HLA-A*24:02 CMV pp65 CTL line
Target cells: OKT3刺激で非特異的に増殖させた HLA-A*24:02 auto PBMC line

<グラフ2>
Effector cells: HLA-A*24:02 CMV pp65 CTL line
Target cells: 図中に示す各alleleのLCL
( )内はパルスしたpeptideの種類

## 製品リスト

| Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| AM-1005M | IMMUNOCYTO Cytotoxicity Detection Kit | 50 tests | ¥50,000 |

*本キットにはCFSEは含まれておりません。

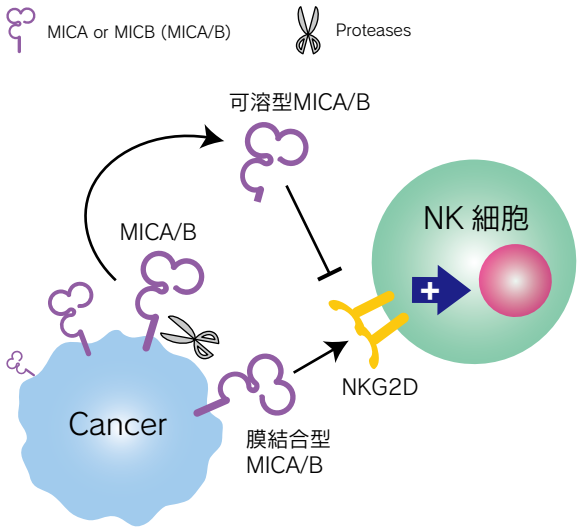
売れています　免疫 >> がん >> キット

## がん治療薬のターゲット分子

# Ab-Match Assembly Human MICA/MICB Kit

MICA (MHC class I chain-related gene A)、MICB (MHC class I chain-related gene B) は、主要組織適合抗原 (MHC) に対して、非古典的な組織適合抗原と呼ばれ、がんあるいはウイルス感染に対する免疫応答に関与しています。MICA と MICB は、正常細胞にはほとんど発現していませんが、さまざまながん細胞やウイルス感染などでダメージを受けた細胞に広く存在しています。一方、MICA/B に対する受容体として C 型レクチンドメインを細胞外にもつ II 型膜タンパク質 NKG2D (CD314) が知られ、異常細胞やがん細胞を除去する NK 細胞、NKT 細胞、γδT 細胞、$CD8^{+}$αβT 細胞などの免疫細胞は、受容体 NKG2D によって MICA/B をリガンドとして認識し、細胞障害活性を発揮します。例えば、NK 細胞はがん細胞表面上の MICA/B を認識することで、がん細胞を攻撃するようになります。興味深いことに、ある種のがん細胞では MMP プロテアーゼなどによって MICA/B は切断されます。その結果、がん細胞表面上の MICA/B の存在量が減少するだけでなく、放出された sMICA/B は免疫細胞に作用して NKG2D 量を減少させる、つまりがん細胞が免疫回避の手段の一つとして MICA/B を利用していることが示唆されています。

近年では、血中の sMICA/B の量とがんのステージや悪性度との関連が注目されており、さらに sMICA/B を切断する MMP プロテアーゼの ADAM は、がん治療のターゲットとして注目されています。




### ● 参考文献


1. Waldhauer I *et al*., Tumor-associated MICA is shed by ADAM proteases. Cancer Res. 68, 6368-6376 (2008) (PMID: 18676862)
2. Armeanu S *et al*., Natural killer cell-mediated lysis of hepatoma cells via specific induction of NKG2D ligands by the histone deacetylase inhibitor sodium valproate. Cancer Res. 65, 6321-6329 (2005) (PMID: 16024634)
3. Salih HR *et al*., Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia. Blood 102, 1389-1396 (2003) (PMID: 12714493)
4. Welte SA *et al*., Selective intracellular retention of virally induced NKG2D ligands by the human cytomegalovirus UL16 glycoprotein. Eur J Immunol. 33, 194-203 (2003) (PMID: 12594848)
5. Salih HR *et al*., Cutting Edge: Down-regulation of MICA on human tumors by proteolytic shedding. J Immunol. 169, 4098-4102 (2002) (PMID: 12370336)
6. Groh V *et al*., Recognition of stress-induced MHC molecules by intestinal epithelial γδT cells. Science 279, 1737-1740 (1998) (PMID: 949729)


## 製品リスト

| Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| 5330 | Ab-Match Assembly Human MICA Kit * | 96 wells | ¥46,000 |
| 5331 | Ab-Match Assembly Human MICB Kit * | 96 wells | ¥46,000 |
| 5310 | Ab-Match Universal Kit | 96 wells | ¥12,000 |
| K0217-3 | Anti-MICA (Human) mAb | 100 μg | ¥30,000 |
| K0219-3 | Anti-MICA/B (Human) mAb | 100 μg | ¥30,000 |
| K0218-3 | Anti-MICA/B (Human) mAb | 100 μg | ¥30,000 |
| K0220-3 | Anti-MICB (Human) mAb | 100 μg | ¥30,000 |

* 測定には、Ab-Match Universal Kit (Code No. 5310) があわせて必要となります。

製品の詳細は MBL ライフサイエンスサイトでご覧下さい。
製品ピックアップ情報　ウェブページ ID【912】
http://ruo.mbl.co.jp/product/cancer/MICA.html

新製品 免疫 >> がん >> キット

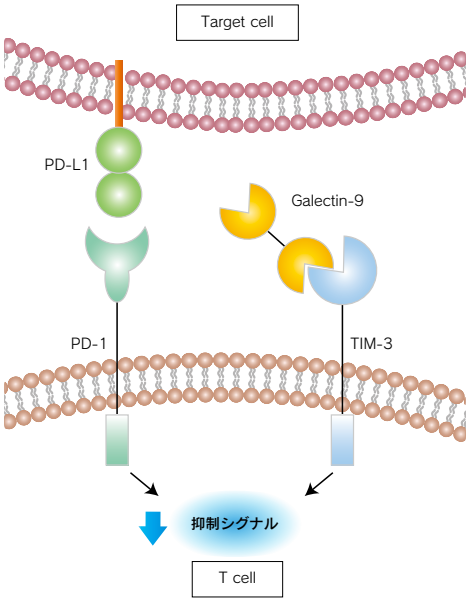
## 注目の免疫チェックポイント分子です

# Ab-Match Assembly Human Galectin-9 Kit

Human Galectin は 10 種知られており、保存された糖鎖結合配列を有する Carbohydrate Recognition Domain (CRD) を持っています。この内、Galectin-4,8,9,12 は CRD が2つ繋がったタンデムリピートタイプの構造を持っています。

Galectin-9 は、受容体である TIM-3 (T cell immunoglobulin and mucin domain 3) と結合することで、I 型ヘルパー T 細胞の活性を抑制することが知られています。

受容体 TIM-3 は I 型ヘルパー T 細胞の他にも Th17 細胞、NK 細胞、NKT 細胞、樹状細胞やマクロファージなどエフェクター細胞に幅広く発現しています。TIM-3 は PD-1 と共働して T 細胞の機能を制限しているため、そのリガンドである galectin-9 とともに免疫チェックポイントのターゲットとして注目されています。




### ● 参考文献


1. Tieu R *et al.*, TIM-3, a Possible Target for Immunotherapy in Cancer and Chronic Viral Infections. Austin Virol and Retrovirology. 1 (2); 6 (2014)
2. Chen L *et al.*, Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. Nat Rev Immunol. April; 13(4): 227–242 (2013) (PMID: 23470321)


## 性能

### 抗体の特異性

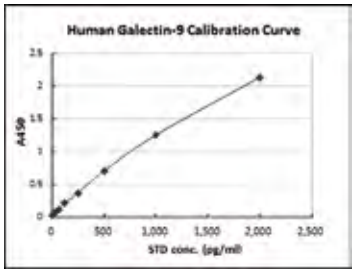
ヒトgalectin-9を特異的に測定することができます。
本製品は、ヒトgalectin-1, -3, -4, -7, -8, -10およびマウスgalectin-9とは交差しません。

### 健常人検体（血清）14例の測定値

正常血清サンプル14例を測定した場合、
下記の結果を得ました。

| | |
|---|---|
| Max. | 159.75 pg/mL |
| Min. | 26.86 pg/mL |
| Mean | 84.10 pg/mL |
| SD | 42.25 pg/mL |
| Mean + 3SD | 210.86 pg/mL |

### 標準曲線




検出感度
3.13 pg/mL

## キット構成品

| | | 包装 |
|---|---|---|
| 1. | Human Galectin-9 standard | 200 μL × 1 vial |
| 2. | Anti-human Galectin-9 capture antibody | 120 μL × 1 vial |
| 3. | Anti-human Galectin-9 detection antibody | 110 μL × 1 vial |
| 4. | Human Galectin-9 dilution buffer | 50 mL × 1 vial |
| 5. | Human Galectin-9 additive | 1.8 mL × 1 vial |
| 6. | Streptavidin conj. peroxidase (SA-HRP) | 110 μL × 1 vial |

## 製品リスト

| | Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|
| New ! | 5344 | Ab-Match Assembly Human Galectin-9 kit * | 96 wells | ¥46,000 |
| | 5310 | Ab-Match Universal Kit | 96 wells | ¥12,000 |
| | D192-3 | Anti-Ecalectin (Galectin-9) (Human) mAb | 100 μg | ¥48,000 |
| | D193-3 | Anti-Ecalectin (Galectin-9) (Human) mAb | 100 μg | ¥48,000 |

* 測定には、Ab-Match Universal Kit (Code No. 5310) があわせて必要となります。

注目！

免疫 >>MHC テトラマー

# 免疫チェックポイント関連抗体製品

Immunohistochemistry

Anti-PD-L1 (Clone: 27A2) (Code No.D230-3)

Lung Adenocarcinoma Tissue

x20

Gastric adenocarcinoma Tissue

x20

## 抗体（非標識）

| Code No. | 抗原 | 使用法 | クローン | アイソタイプ |
|---|---|---|---|---|
| B-AM3275M | CD30 (Ki-1 Antigen) (Human) | IH | Ber-H2 | Mouse IgG1κ |
| B-AM3515M | CD30 (Ki-1 Antigen) (Human) | IH | HRS-4 | Mouse IgG1 |
| B-MU351UC | CD30 (Ki-1 Antigen) (Human) | IH | HRS-4 | Mouse |
| K0145-3 | CD30 (Ki-1 Antigen) (Human) | WB/IP/FCM/IH | Ber-H2 | Mouse IgG1 |
| D175-3 | Nectin-2 (CD112) (Human) | FCM | TX31 | Rat IgG2a |
| D083-3 | Nectin-2 (CD112) (Mouse) | IC | 502-57 | Rat IgG2aκ |
| D084-3 | Nectin-3 (CD113) (Mouse) | IC | 103-A1 | Rat IgG2aκ |
| K0224-3 | Nectin-3 (CD113) (Human) | IP/FCM/IC | N3.12.4 | Mouse IgG2aκ |
| D125-3 | OX40 (CD134) (Human) | FCM | W4-3 | Rat IgG2a |
| D126-3 | OX40L (CD252) (Human) | FCM | TAG-34 | Mouse IgG1 |
| D230-3 | PD-L1 (CD274) (Human) | FCM/IH | 27A2 | Mouse IgG2b |
| D092-3 | PD-L1 (CD274) (Human) | FCM | MIH3 | Mouse IgG1 |
| D132-3 | PD-1 (CD279) (Human) | WB/FCM | J110 | Mouse IgG1 |
| D133-3 | PD-1 (CD279) (Human) | FCM | J105 | Mouse IgG1 |
| IM-1376 | CD28 (Human) | FCM | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| IM-1374 | CD40 (Human) | FCM | MAB89 | Mouse IgG1 |

| Code No. | 抗原 | 使用法 | クローン | アイソタイプ |
|---|---|---|---|---|
| D051-3 | CD40L (CD154) (Human) | FCM | 5F3 | Mouse IgG1 |
| D091-3 | CTLA-4 (CD152) (Human) | FCM | MIH8 | Mouse IgG3κ |
| IM-2070 | CTLA-4 (CD152) (Human) | FCM | BNI3 | Mouse IgG2a |
| D192-3 | Galectin-9 (Ecalectin) (Human) | FCM/ELISA | ECA8 | Mouse IgG1 |
| D193-3 | Galectin-9 (Ecalectin) (Human) | FCM/ELISA | ECA42 | Mouse IgG2b |
| K0002-1 | CD2 (LFA-2) (Human) | IH | AB75 | Mouse IgG1κ |
| B-AM4385M | CD2 (LFA-2) (Human) | IH | AB75 | Mouse IgG1κ |
| B-MU438UC | CD2 (LFA-2) (Human) | IH | AB75 | Mouse IgG1κ |
| D222-3 | GITR (Mouse) | IP/FCM | DTA-1 | Rat IgG2b |
| D222-3M2 | GITR (Mouse) (Functional grade) | Function | DTA-1 | Rat IgG2b |
| D172-3 | CD226 (DNAM-1) (Human) | FCM | TX25 | Mouse IgG1κ |
| IM-2034 | CD27 (Human) | FCM | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |
| D174-3 | CD155 (Human) | FCM | TX21 | Rat IgG2a |
| K0122-1 | CD160 (Human) | IP*/FCM/Other* | CL1-R2 | Mouse IgG1 |
| K0031-3 | HVEM (Human) | FCM | 122 | Mouse IgG1κ |
| LMC-8811 | CD70 (Human) | IH | Polyclonal | Rabbit Ig(aff.) |

WB: Western Blotting　IP: Immunoprecipitation　IHC: Immunohistochemistry　IF: Immunofluorescence　FCM: Flow Cytometry　*: 論文で報告されております（MBL では未確認）。詳しくはデータシートをご覧ください。

## 抗体（標識）

| 標識 | Code No. | 抗原 | クローン | アイソタイプ |
|---|---|---|---|---|
| FITC | D132-4 | PD-1 (CD279) (Human) | J110 | Mouse IgG1 |
| | IM-1853 | B7-1 (CD80) (Human) | MAB104 | Mouse IgG1 |
| | IM-1236 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | D051-4 | CD40L (CD154) (Human) | 5F3 | Mouse IgG1 |
| | 6603863 | CD2 (LFA-2) (Human) | SFCI3Pt2H9(T11) | Mouse IgG1 |
| | 6602389 | CD2 (LFA-2) (Human) | SFCI3Pt2H9(T11) | Mouse IgG1 |
| | A07743 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | IM-1218 | CD58 (LFA-3) (Human) | AICD58 | Mouse IgG2a |
| | K0145-4 | CD30 (Ki-1 Antigen) (Human) | Ber-H2 | Mouse IgG1 |
| | D222-4 | GITR (Mouse) ※ | DTA-1 | Rat IgG2b |
| | D172-4 | CD226 (DNAM-1) (Human) | TX25 | Mouse IgG1κ |
| | IM-1837 | CD48 (Human) | J4.57 | Mouse IgG1 |
| | D174-4 | CD155 (Human) | TX21 | Rabbit IgG2a |
| | D175-4 | Nectin-2 (CD112) (Human) | TX31 | Rabbit IgG2a |
| | K0031-4 | HVEM (Human) | 122 | Mouse IgG1κ |
| PE | D132-5 | PD-1 (CD279) (Human) | J110 | Mouse IgG1 |
| | D133-5 | PD-1 (CD279) (Human) | J105 | Mouse IgG1 |
| | B30634 | PD-1 (CD279) (Human) | PD1.3 | Mouse IgG2b |
| | D230-5 | PD-L1 (CD274) (Human) | 27A2 | Mouse IgG2b |
| | IM-1976 | B7-1 (CD80) (Human) | MAB104 | Mouse IgG1 |
| | IM-2729 | B7-2 (CD86) (Human) | HA5.2B7 | Mouse IgG2b |
| | IM-2282 | CTLA-4 (CD152) (Human) | BNI3 | Mouse IgG2a |
| | A49080 | ICOS (CD278) (Human) | ISA-3 | Mouse IgG1 |
| | IM-2071 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | IM-1936 | CD40 (Human) | MAB89 | Mouse IgG1 |
| | IM-2216 | CD40L (CD154) (Human) | TRAP-1 | Mouse IgG1 |
| | A07744 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | IM-1430 | CD58 (LFA-3) (Human) | AICD58 | Mouse IgG2a |
| | IM-2033 | CD30 (Ki-1 Antigen) (Human) | HRS4 | Mouse IgG1 |
| | D222-5 | GITR (Mouse) | DTA-1 | Rat IgG2b |
| | D174-5 | CD155 (Human) | TX21 | Rabbit IgG2a |
| | IM-3657 | CD160 (Human) | BY55 | Mouse IgM |
| | IM-2578 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |
| APC | B30633 | PD-1 (CD279) (Human) | PD1.3 | Mouse IgG2b |
| | B36126 | PD-L1 (CD274) (Human) | PDL1.3.1 | Mouse IgG1 |
| | B30642 | B7-1 (CD80) (Human) | MAB104 | Mouse IgG1 |
| | B10244 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | B30636 | CD40 (Human) | MAB89 | Mouse IgG1 |
| | A60794 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | IM-3701 | CD58 (LFA-3) (Human) | AICD58 | Mouse IgG2a |
| | A87939 | CD30 (Ki-1Antigen) (Human) | HRS4 | Mouse IgG1 |
| | B09983 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |

| 標識 | Code No. | 抗原 | クローン | アイソタイプ |
|---|---|---|---|---|
| APC-Alexa Fluor® 750 | B30643 | B7-1 (CD80) (Human) | MAB104 | Mouse IgG1 |
| | B08757 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | B01681 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | B12701 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |
| APC-Alexa Fluor® 700 | B12111 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | B12696 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| PC7 | A78885 | PD-1 (CD279) (Human) | PD1.3 | Mouse IgG2b |
| | A78884 | PD-L1 (CD274) (Human) | PDL1.3.1 | Mouse IgG1κ |
| | B30648 | B7-2 (CD86) (Human) | HA5.2B7 | Mouse IgG2b |
| | B23313 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | A21689 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | A54823 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |
| PC5.5 | B36123 | PD-1 (CD279) (Human) | PD1.3 | Mouse IgG2b |
| | B30647 | B7-2 (CD86) (Human) | HA5.2B7 | Mouse IgG2b |
| | B24027 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | B20025 | CD40 (Human) | MAB89 | Mouse IgG1 |
| | B21444 | CD27 (Human) | 1 A4CD27 | Mouse IgG1 |
| PC5 | 6607108 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | A07745 | CD2 (LFA-2) (Human) | 39C1.5 | Rat IgG2a |
| | IM-3702 | CD58 (LFA-3) (Human) | AICD58 | Mouse IgG2a |
| | 6607107 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |
| ECD | B26603 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |
| | 6607111 | CD28 (Human) | CD28.2 | Mouse IgG1 |
| | B06026 | CD48 (Human) | J4.57 | Mouse IgG1 |
| Alexa Fluor® 488 | M173-A48 | B7-1 (CD80) (Human) | 1A5 | Mouse IgG2bκ |
| | K0224-A48 | Nectin-3 (CD113) (Human) | N3.12.4 | Mouse IgG2bκ |
| Alexa Fluor® 647 | M173-A64 | B7-1 (CD80) (Human) | 1A5 | Mouse IgG2bκ |
| RD1 | 6602868 | CD2 (LFA-2) (Human) | SFCI3Pt2H9(T11) | Mouse IgG1 |
| | 6603849 | CD2 (LFA-2) (Human) | SFCI3Pt2H9(T11) | Mouse IgG1 |
| Biotin | D092-6 | PD-L1 (CD274) (Human) | MIH3 | Mouse IgG1 |
| | D091-6 | CTLA-4 (CD152) (Human) | MIH8 | Mouse IgG3κ |
| Pacific Blue | B30635 | CD27 (Human) | 1A4CD27 | Mouse IgG1 |

※ D222-4 は IP でも使用できます。　Ham: Hamster

【注目！】

抗体 >> タグ >> 蛍光タンパク

## 様々な RFP バリアントを検出できます

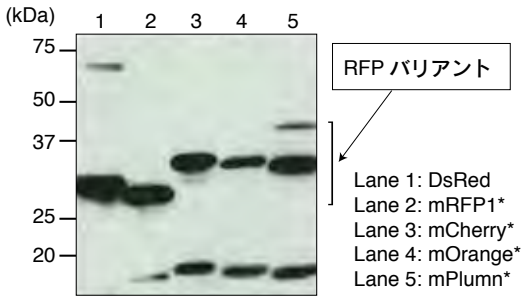
# Anti-RFP mAb Cocktail

WB で力価が高いクローン：1G9 と IC/IP/FCM で使用可能なクローン：3G5、MBL オリジナルの両クローンをカクテルにした製品です。

※個別クローンの製品もご好評いただいております。
WB でのご使用には Code No. M204-3（クローン：1G9）、IC/IP/FCM でのご使用には Code No. M165-3（クローン：3G5）がおすすめです。

### ■ 特徴

- 幅広いアプリケーションでお使いいただけます。
- さまざまな RFP バリアントを検出できます。
- WB で高感度です。




*Samples were provided by RIKEN.

種々のRFPバリアントをAnti-RFP mAb Cocktail (Code No. M208-3)を用いたWestern blotで検出いたしました。

HeLa細胞で発現させたDsRedを免疫細胞染色で検出いたしました。

### ■ 製品リスト

| Code No. | 製品名 | クローン | アイソタイプ | 包装 | 使用法 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| M208-3 | Anti-RFP mAb Cocktail | 1G9, 3G5 (mixed) | Mouse IgG2bκ, IgG1κ | 50 μg /50 μL | WB, IC, FCM, IP | ¥48,000 |

WB: Western Blotting, IC: Immunocytochemistry, FCM: Flow Cytometry
IP: Immunoprecipitation

製品の詳細は MBL ライフサイエンスサイトでご覧下さい。
製品ピックアップ情報　Web ページ ID【908】
http://ruo.mbl.co.jp/product/tag/rfp.html#cocktail

MBL では多くの Anti-RFP 抗体関連製品を取り揃えております。
MBL ライフサイエンスサイト内で「RUO23RFP」とキーワード検索すると一覧をご覧頂けます。

【注目！】

キット >> オートファジー

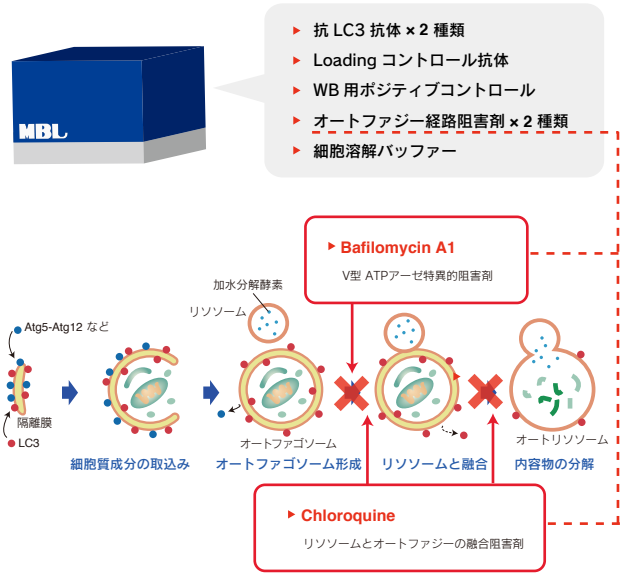
## オートファジー関連抗体と阻害剤のセット

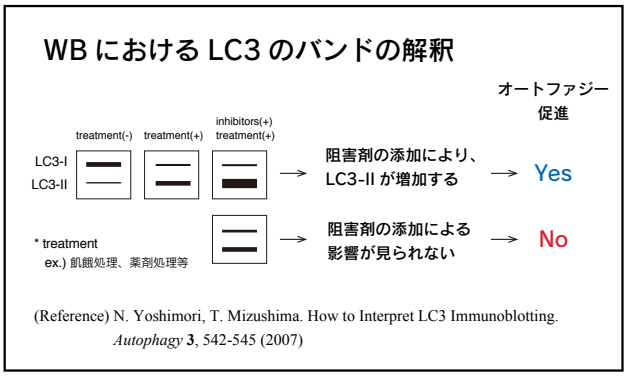
# *Autophagy Watch*
## for Autophagy Flux Assay and LC3 Immunostaining

*Autophagy Watch* は、「Autophagy Flux Assay」を手軽に実施できる抗体と阻害剤をセットにした製品です。

### ■ 特徴

- WB 用の抗 LC3 抗体は HRP 標識されているのでアッセイ時間を短縮できます。
- 阻害剤は 1,000 倍希釈するだけで、すぐに適切な濃度で使用できます。
- IC 用の抗 LC3 抗体も含まれています。



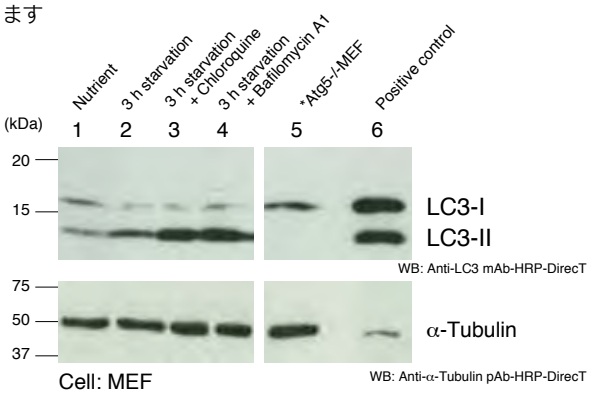

### ■ 製品リスト

| Code No. | 製品名 | 価格（税別） |
|---|---|---|
| 8486 | Autophagy Watch | ¥85,000 |

Autophagy Watch
製品ピックアップ情報　Web ページ ID【005】
http://ruo.mbl.co.jp/product/autophagy/autophagywatch.html

## ■ *Autophagy Watch* を用いたオートファジー検出例（WB）

飢餓処理により、栄養状態に比べて LC3-II の増加が見られます。(Lane1,2) 飢餓処理に加え、培地中に Chloroquine, Bafilomycin A1 を加えると LC3-II がさらに増加することから (Lane3,4)、飢餓処理によるオートファゴソーム形成が促進されていることが分かります




* Atg5-/- MEF was kindly provided by Dr. Mizushima Noboru. (Department of Biochemistry and Molecular Biology, Graduate School and Faculty of Medicine, The University of Tokyo)

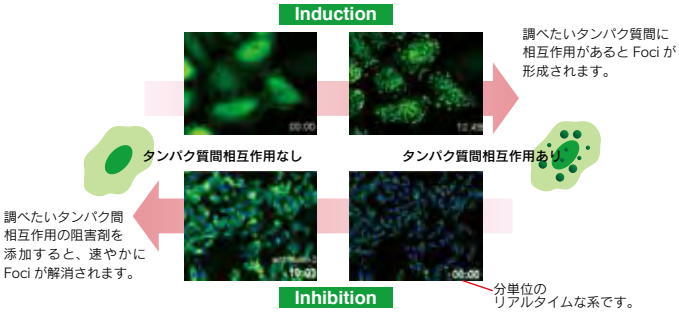
**【新製品】**

抗体 >> 蛍光タンパク

**Fluoppi システムの Ash-tag に対する抗体です**

# Anti-Ash-tag mAb

Fluoppi（フロッピー）は、生きた細胞内でタンパク質間相互作用 (Protein-Protein Interaction, PPI) を測定するための新しい基盤技術です。この度、Ash-tag に特異的に反応する抗体を開発いたしました。

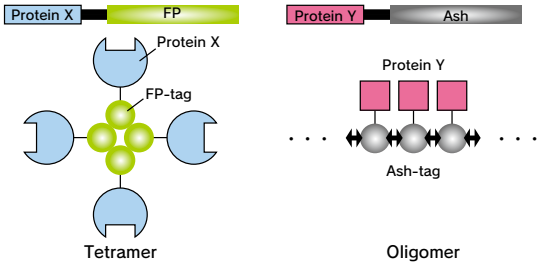



## ■ 特徴

- WB で使用できる抗体です。
- Ash-MNL, MCL どちらにも反応します。
- 内在性のタンパク質に反応せず、特異的です。

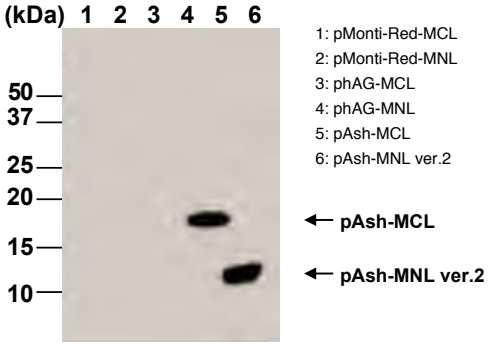
### 使用コンセプト

Fluoppi システムを構築するためには、蛍光タンパク質と Ash-tag それぞれを細胞に導入する必要がありますが、蛍光タンパク質と異なり Ash-tag はこれまで発現をダイレクトに確認する事ができませんでした。Ash-tag 抗体は、Fluoppi ベクターの一部をエピトープに持つため、ベクター由来の強制発現された Ash-tag 特異的にしか反応しません。従って速やかに、細胞に発現があるのか否かを WB によって調べる事ができます。




## ■ 使用例

Western blotting




Immunoblotted with Anti-Ash-tag mAb (Code No. M223-3)

関連カタログ
「RUO Topics Vol.18」
Web ページ ID【004】

## ■ 製品リスト

| Code No. | 製品名 | クローン | アイソタイプ | 包装 | 使用法 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| M223-3 | Anti-Ash-tag mAb | C15-2 | Mouse IgG1 | 100 μL | WB | ¥48,000 |

| 蛍光タンパク質 | Code No. | 製品名 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| Monti-Red（赤色） | AM-8012M* | Fluoppi Ver.2 : Ash-Red (Ash-MNL/MCL + Monti-Red-MNL/MCL) | ¥190,000 |
| | AM-VS0802M | Monti-Red for Fluoppi (pMonti-Red-MNL/MCL) | ¥38,000 |
| hAG（緑色） | AM-8011M* | Fluoppi Ver.2 : Ash-hAG (Ash-MNL/MCL + hAG-MNL/MCL) | ¥190,000 |
| | AM-VS0801M | humanized Azami-Green for Fluoppi (phAG-MNL/MCL) | ¥38,000 |
| | AM-8201M | Fluoppi : Ash-hAG [p53-MDM2] | ¥80,000 |
| | AM-8202M | Fluoppi : Ash-hAG [mTOR-FKBP12] | ¥80,000 |

＊AM-8001M, AM-8002M は発売中止となります。旧 Ver.(AM-8001M, AM-8002M) では、Ash-tag 抗体は、Ash-MCL のみに反応し Ash-MNL には反応しませんのでご注意ください。
注）Fluoppi レンチウイルスベクター（製品コード SI-）につきましても、Ash-MCL は反応しますが、Ash-MNL には Anti-Ash-tag 抗体は反応しませんのでご注意ください。

【新製品】

キット >> RNA-RNP ネットワーク

## 植物 RNA ウイルスを網羅的に検出できます

# Plant Viral dsRNA Enrichment Kit

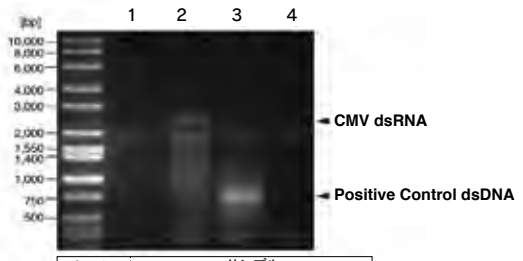
ウイルス由来の２本鎖 RNA（dsRNA）を、２本鎖 RNA 結合蛋白質を用いて単離するキットです。公益財団法人岩手生物工学研究センターで開発された、網羅的 RNA ウイルス検出技術（DECS 法）の dsRNA 濃縮ステップをキット化しました。

### ■ 特徴

- ウイルス由来の dsRNA を単離できます。
- 得られた dsRNA はそのまま電気泳動でき、ウイルス感染を判別できます。
- 得られた dsRNA を逆転写・増幅の後、シーケンス解析することにより、ウイルス種の同定も可能です。

### ■ 使用例

DNA や RNA などの核酸はアガロースゲル電気泳動で分子量に応じて分離され、エチジウムブロマイド染色によりバンドとして可視化することができます。本キットでウイルス由来の dsRNA が十分に濃縮できていれば、下図レーン２のように、電気泳動でそのバンドを確認することができます。（ウイルスによって dsRNA の分子量は異なります。）また、キットに含まれるポジティブコントロール用の dsRNA を使用することで、実験操作を確認することができます。




| レーン | サンプル |
|---|---|
| 1 | 粗汁液（健全葉 0.2 g分） |
| 2 | 粗汁液（感染葉 0.2 g分） |
| 3 | Positive Control dsDNA（1 μg） |
| 4 | サンプルなし |

＊マーカーに DNA ラダーを使用しておりますが、アガロースゲル中の dsRNA と二本鎖 DNA の易動度は若干異なります。

### ● 参考文献


1) Atsumi G. *et al*. Methods Mol Biol. 1236, 27-37 (2015)
2) Kobayashi K. *et al*. J. Gen. Plant Pathol. 79, 56-63 (2013)
3) Kobayashi K. *et al*. J. Gen. Plant Pathol. 75, 87-91 (2009)


### ■ 製品リスト

| | Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|
| New ! | 5345-100<br>5345-200 | Plant Viral dsRNA Enrichment Kit | 50 tests | ￥55,000 |

※ Code No.5345-100 と 5345-200 はセット販売となっております。
異なる保存温度ですので、ご注意ください。

製品詳細情報　Web ページ ID【907】
http://ruo.mbl.co.jp/dtl/P/5345-100/

【新製品】

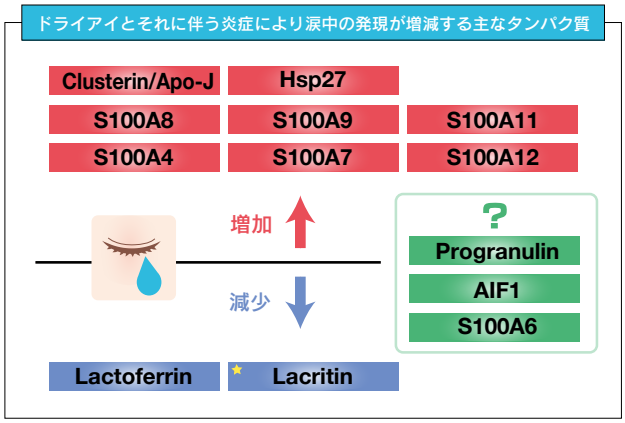
キット >> 代謝

CircuLex™

## 涙サンプルで測定できる ELISA Kit

# Human Lacritin ELISA Kit

Lacritin は、ヒト涙腺腺房細胞から分泌される涙糖タンパク質です。眼の表面に涙を保持する役割を持っており、涙中の Lacritin の減少は眼瞼炎、ドライアイを引き起こすと報告されています。




### ■ 製品リスト

| | Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|
| New ! | CY-8105 | CircuLex Human Lacritin ELISA Kit | 96 Assays | ￥98,000 |

【新製品】

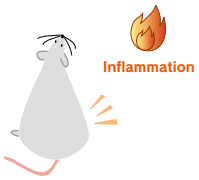
キット >> 代謝

CircuLex™

## マウス CIRP を ELISA で！

# Mouse CIRP ELISA Kit

CIRP は CIRBP (cold inducible RNA binding protein) とも呼ばれる glycine-rich RNA 結合タンパク質です。さまざまな組織や細胞で発現しており、低温ショック、UV 照射、低酸素等のストレスにより発現が亢進し、細胞質に出て標的の mRNA に結合します。一方、細胞外 CIRP は、出血性ショックや敗血症の前炎症性メディエーターであることが報告されています。




### ■ 製品リスト

| | Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|
| New ! | CY-8102 | CircuLex Mouse CIRP ELISA Kit | 96 Assays | ￥98,000 |

【新製品】【注目！】

キット >> ドラッグディスカバリー

CycLex®

## NAD⁺ 生合成から広がる世界

# CycLex 社 NAD⁺ 生合成関連 Colorimetric Assay Kit

不要になった DNA、RNA が分解するときに生成するヌクレオチドや塩基はサルベージ経路に取り込まれ再利用されます。近年、この経路に登場する分子と、細胞増殖、代謝、概日リズムなどに関わる様々な酵素との関与が注目されています。

## ■ 特徴

- Colorimetric assay で操作が簡便
- 高感度
- 阻害剤のスクリーニングにも最適

※詳細は各キットのデータシートをご覧ください。

## ■ NAMPT

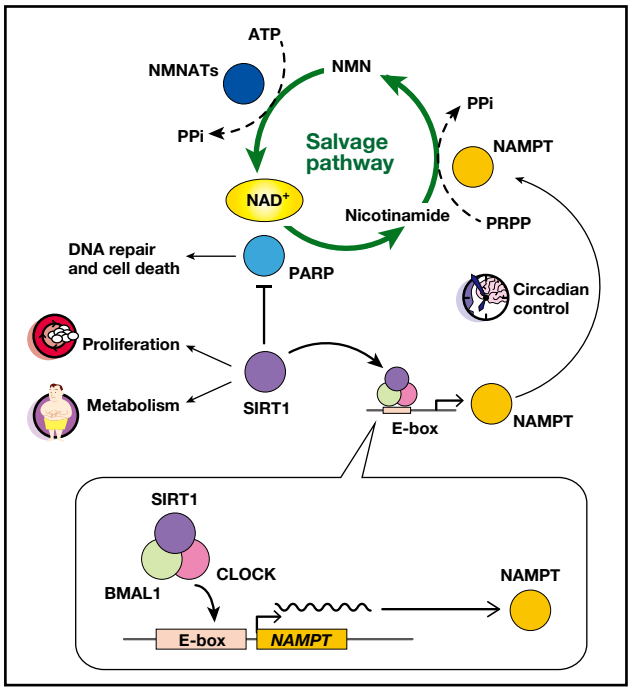
PBEF、visfatin とも呼ばれる Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) は、哺乳動物の NAD⁺ 生合成サルベージ経路の律速酵素です。NAMPT の発現は、様々な炎症性サイトカインで刺激された上皮細胞や、単球、マクロファージ、樹状細胞、T 細胞、B 細胞などの免疫細胞の活性化に伴って上昇します。また、NAMPT が、概日周期遺伝子の発現と NAD⁺ の日周振動の調節に必要であることも明らかにされています。

## ■ NMNAT

Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase1 (NMNAT1) は、NAD⁺ 生合成における中心的な酵素です。ATP のアデニリル基を NAD⁺ または NaAD⁺ に転位し、Nicotinamide mononucleotide (NMN) または Nicotinic acid mononucleotide (NaMN) を生成すると同時にピロリン酸を放出します。

## ■ NAD⁺/NADH

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (Nicotinamide adenine dinucleotide) は、酸化型 (NAD⁺) および還元型 (NADH) の 2 つの状態を取る電子伝達体です。NAD⁺ の代謝はさまざまな生物学的効果を調節することが報告されています。poly (ADP リボース ) ポリメラーゼ (PARP) 、mono(ADP リボース ) ポリメラーゼ (ARTs) や sirtuin 等の酵素は NAD⁺ 依存的に機能し、アポトーシス、DNA 修復、老化および内分泌シグナルなど、複数の経路に関与しています。




製品ピックアップ情報　Web ページ ID【906】
http://ruo.mbl.co.jp/product/discovery/nad.html

## ■ 製品リスト

| | Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|
| | CY-1251 | CycLex® NAMPT Colorimetric Assay Kit | 100 Assays | ¥80,000 |
| | CY-1252 | CycLex® NMNAT Colorimetric Assay Kit | 100 Assays | ¥64,000 |
| | CY-1253 | CycLex® NAD⁺/NADH Colorimetric Assay Kit | 100 Assays | ¥52,000 |
| | CY-1151V2 | CycLex® SIRT1/Sir2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit Ver.2 | 100 Assays | ¥64,000 |
| | CY-1152V2 | CycLex® SIRT2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit Ver.2 | 100 Assays | ¥64,000 |
| | CY-1153V2 | CycLex® SIRT3 Deacetylase Fluorometric Assay Kit Ver.2 | 100 Assays | ¥64,000 |
| New！ | CY-1155 | CycLex® SIRT5 Deacetylase Fluorometric Assay Kit | 100 Assays | ¥64,000 |
| | CY-1156V2 | CycLex® SIRT6 Deacetylase Fluorometric Assay Kit Ver.2 | 100 Assays | ¥64,000 |
| | CY-E1151 | NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT1 (recombinant) | 100 μg | ¥50,000 |
| | CY-E1152 | NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT2 (recombinant) | 100 μg | ¥50,000 |
| | CY-E1153 | NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT3 (recombinant) | 100 μg | ¥50,000 |
| New！ | CY-E1155 | NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT5 (recombinant) | 100 μg | ¥50,000 |
| | CY-E1156 | NAD⁺-Dependent Deacetylase SIRT6 (recombinant) | 100 μg | ¥50,000 |
| | CY-E1251 | NAMPT (Human, Active) | 100 μg | ¥60,000 |
| | CY-E1252-1 | NMNAT1 (Human, Active) | 50 μg | ¥60,000 |
| | CY-E1252-2 | NMNAT2 (Human, Active) | 50 μg | ¥60,000 |
| | CY-E1252-3 | NMNAT3 (Human, Active) | 100 μg | ¥60,000 |

【注目！】

RNA-RNP ネットワーク

## 超高感度 RNA *in situ* ハイブリダイゼーション試薬

# RNAscope®

## ■ 特徴

**・Single-molecule Sensitivity**

最も高感度な *in situ* RNA 検出法です。

**・Specificity**

低バックグランドとなるよう検出プローブを設計。1 コピーを最大 8,000 倍まで増幅させます。

**・Single-cell Quantitation**

1 細胞レベルの解像度で組織中のターゲットとする転写産物の定量が可能です。

**・Univesal**

各遺伝子、各動物種、各組織サンプル (FFPE/Fixed & Fresh frozen tissues) で利用可能です。

**・Rapid & Scalable**

新規プローブは約 2-3 週間でプローブの設計が可能です。また、Roche 社、Leica 社の自動染色装置に対応する試薬も提供しています。

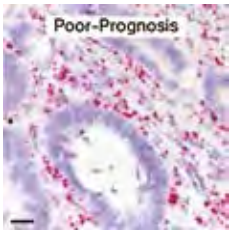
RNAscope は、下記のようながん関連領域で、その有用性が示されています。

### ● Tumor Heterogeneity

1. Kunju LP *et al*., Novel RNA hybridization method for the *in situ* detection of ETV1, ETV4, and ETV5 gene fusions in prostate cancer. Appl Immunohistochem Mol Morphol. Sep;22(8):e32-40. 2014 (PMID: 25203299)

### ● Tumor Microenviroment

2. Isella C *et al*., Stromal contribution to the colorectal cancer transcriptome. Nat Genet. Feb 23. 2015 (PMID: 25706627)




ZEB1 mRNA expression in stromal cells rather than epithelial(cancer) cells

3. Cheon DJ *et al*., A collagen-remodeling gene signature regulated by TGF-β signaling is associated with metastasis and poor survival in serous ovarian cancer. Clin Cancer Res. Feb 1; 20(3):711–723. 2014 (PMID: 24218511)

tE: tumor epithelium
iS: intratumoral stroma
pS: peritumoral stroma
dS: distant stroma
F: Fat

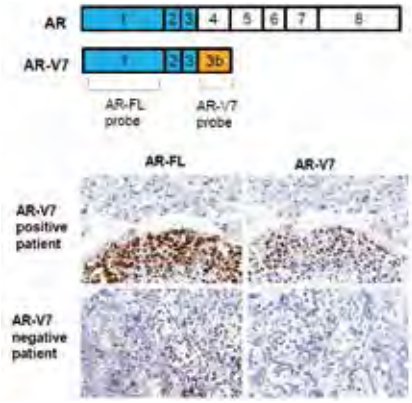
### ● Tumor associated non-coding RNAs

4. Mehra R *et al*., A novel RNA *in situ* hybridization assay for the long noncoding RNA SChLAP1 predicts poor clinical outcome after radical prostatectomy in clinically localized prostate cancer. Neoplasia. Dec; 16 (12): 1121-1127. 2014 (PMID: 25499224)

RNAscope to study spectrum of SChLAP lncRNA expression in clinical samples (N=160)
RNAscope as a unique tool to study quatitative tissue expression and localization for long non-coding RNAs in patient derived FFPE samples

### ● Biomarker for cancer drug response

5. Antonarakis ES *et al*., AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. N Engl J Med. Sep 11;371(11):1028-38. 2014 (PMID: 25184630)




Detection of AR-V7 from patients with castration resistant prostate cancer may be associate with resistance to enzalutamide and abiraterone.

### ● Specific appication : HPV

ACD 論文掲載数　計 33 報 (2015 年度 4 月時点)

An improved analytical method for HPV clinical investigations

HPV(+) Cevical cancer

**RNAscope HPV assay will be available as an *in vitro* diagnostic device soon!**

## ■ RNAscope® アッセイに必要な試薬・機器

### ● 検出試薬

| Code No. | 製品名 | 包装 | 価格 (税別) |
|---|---|---|---|
| 310035A | RNAscope® 2.0 HD Reagent Kit (BROWN) ※1 | 20 slides | ¥200,000 |
| 310036A | RNAscope® 2.0 HD Reagent Kit (RED) ※2 | 20 slides | ¥200,000 |
| 320700A | RNAscope® 2-plex Reagent Kit (HRP-Green or Fast Red) ※2 | 20 slides | ¥300,000 |
| 320850A | RNAscope® Fluorescent Multiplex Reagent Kit ※3 | 20 slides | ¥288,000 |

※1　基質として茶 (DAB・封入剤は非水溶性) と赤 (Fast Red・封入剤は水溶性) からご選択いただけます。
※2　緑 (HRP-Green) と赤 (Fast Red) での検出となります。
※3　3プレックスまでの染色が可能です。

### ● プローブ

プローブリストからご選択いただくか、カスタムメイドでご用意させていただくことが可能です。

→詳しくは support@mbl.co.jp までお問い合わせください。

→プローブ情報詳細などの検索はこちらから

http://www.acdbio.com/products/target-probes/search-product

### ● ハイブリダイゼーションシステム

RNAscope® アッセイは、本システムを使用した場合のみ性能を保証させていただいております。

製品の詳細はMBLライフサイエンスサイトでご覧下さい。

製品ピックアップ情報　Web ページ ID【116】

http://ruo.mbl.co.jp/product/epigenetics/rnascope.html

製品一覧

http://ruo.mbl.co.jp/sch/genre/P/28

関連カタログ「RNAscope®」Web ページ ID【117】

【新製品】

キット >> 細胞培養関連

SCIVAX Life Sciences

## がん初代スフェロイドを培養できます

# 3 次元初代がん細胞培養キット

腫瘍組織から得た細胞を NanoCulture Plate で培養することで、間質細胞を含むがん細胞スフェロイドを得ることができます。初代がん細胞を用いた薬剤感受性研究などにご利用いただけます。

## ■ 特徴

- Dissociation solution、Culture medium、Culture plate がセットになっていますので、すぐに培養を始められます。
- NanoCulture Plate上では間質細胞の増殖が抑制されるため、がん細胞の単離工程不要です。
- 得られるスフェロイドは適度に間質細胞を含み、*in vivo*に近い微小環境を再現します。

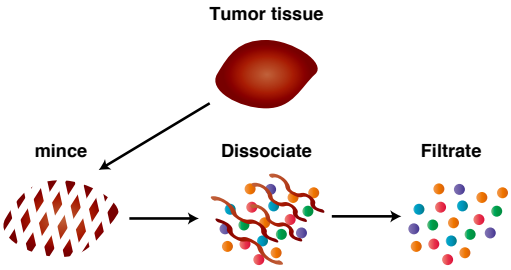
△ 3 次元初代がん細胞培養キット（試薬）

△ 3 次元初代がん細胞培養キット（NanoCulture Plate 96-well）

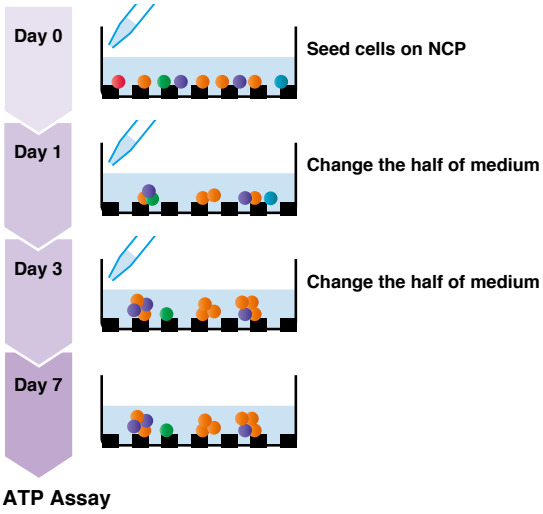
## ■ 操作方法

**3次元初代がん細胞培養の操作手順**

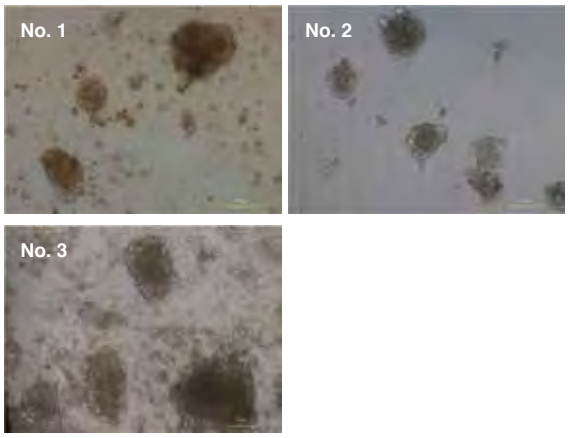
● シングルセルの調製




● NanoCulture Plateを用いた3次元培養




● 由来が異なる3検体から得られたスフェロイド




## ■ 製品リスト

| | Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|---|
| New ! | NC-PCK-5 / NC-PCK-51 | 3D Primary Cancer Cell Culture Kit | 1 キット | ￥100,000 |

※ NC-PCK-5 と NC-PCK-51 はセット品です。 保存温度が異なりますのでご注意ください。

製品詳細情報　Web ページ ID【909】
http://ruo.mbl.co.jp/dtl/P/NC-PCK-5/

【注目】

幹細胞研究 >> CytoTune®-iPS kit

ID Pharma　iPS PORTAL

## 新 iPS 細胞誘導キット

# CytoTune®-iPS 2.0L

癌化リスクの少ない *L-MYC* を搭載した iPS 細胞誘導キットを発売します。このキットは、各リプログラミング遺伝子の搭載法や温度感受性ベクターの組み合わせについて最適化されています。*L-MYC* の単独因子での購入も可能で、CytoTune®-iPS 2.0 SeV ベクターキットと組合わせてご利用いただけます。

## ■ 特徴

- **染色体を傷つけない**
- **高い iPS 細胞誘導効率**
- **簡使な操作**

## ■ CytoTune®-iPS2.0L の SeV ベクター構成

### SeV ベクター

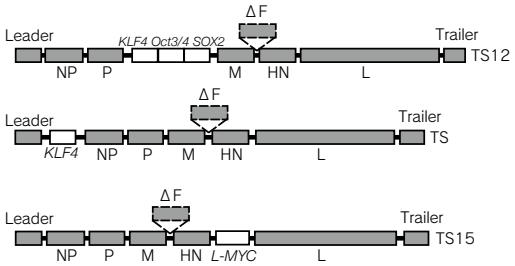
本製品に使用されている SeV ベクターは、NP、P、M、F（活性化済み）、HN、L の構成蛋白質と F 遺伝子を欠失させた SeV ゲノムより構成されています。広範な細胞への遺伝子導入能を維持している他、SeV ゲノム上より F 遺伝子を欠失させて、遺伝子導入細胞から感染可能なウイルス粒子が産生されないよう工夫されています。また、温度感受性変異などアミノ酸レベルの変異を導入してベクターを除去しやすいようにしています（SeV/TS Δ F および SeV/TS15 Δ F）。

### 本製品の構成

| | |
|---|---|
| チューブ KOS | KOS(PM)-SeV/TS12ΔF 100 μL（5x10$^6$CIU以上/100 μL） |
| チューブ Klf | KLF4-SeV/TSΔF 100 μL（5x10$^6$CIU 以上/100 μL） |
| チューブ Myc | L-MYC(HNL)-SeV/TS15ΔF 100 μL（5x10$^6$CIU以上/100 μL） |

ヒト線維芽細胞株BJ 細胞を用いた場合、1x10$^6$の細胞に対して1回の実験が可能です。

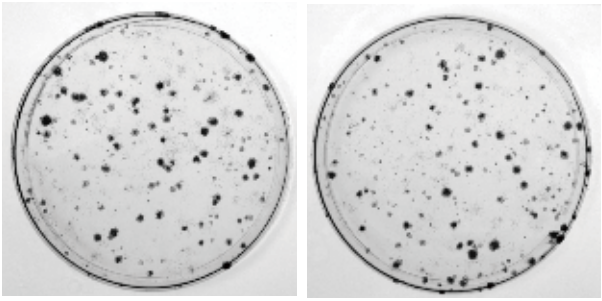
### SeV ベクターの構造




## ■ *L-MYC* による iPS 細胞誘導

*L-Myc* を用いた iPS 細胞誘導効率は、*c-Myc* を用いた時とほぼ同程度であることを確認しました。

2.43±0.67%　　2.64±0.58%



CytoTune®-iPS 2.0 (*c-MYC*)　　CytoTune®-iPS 2.0L (*L-MYC*)

BJ 細胞（ヒト繊維芽細胞株）に CytoTune®-iPS 2.0（左）と CytoTune®-iPS 2.0L を用いて作製した iPS 細胞のコロニー。
上部の数字は誘導効率を示します。

### 臨床応用に向けた ID ファーマ社の取り組み

最近ハーバード大のグループにより複数のリプログラミング法を比較した論文が発表されました[2)]。

結論として SeV ベクター法が推奨されていますが、課題として臨床応用への対応が挙げられています。再生医療新法の制定や iPS 細胞を用いて臨床試験開始を背景に ID ファーマ社でもこの課題に取り組んでいます。SeV ベクター自体は、遺伝子治療を目的に既に臨床研究に用いられており安全性が担保されています。

ID ファーマ社では、このような遺伝子治療開発で培ったベクター製造技術とノウハウを活用し、臨床用キットを開発中です。

## ■ 使用文献


1. 川口実太郎，佐伯晃一．センダイウイルスベクターを用いた体細胞リプログラミング法の改良と臨床用キットの開発．BIO Clinica. 30, 453-4 (2015)
2. Schaeger TM *et al*. A comparison of non-integrating reprogramming methods. Nat Biotechnol. 33, 58-63 (2015)


CytoTune®-iPS2.0L ピックアップページ
Web ページ ID【029】
http://ruo.mbl.co.jp/product/regeneration-medicine/cytotune2L.html

CytoTune®-iPS 製品一覧ページ
Web ページ ID【030】
http://ruo.mbl.co.jp/sch/?kw=CytoTuneiPS-SeV

## ■ CytoTune®-iPS 関連　製品リスト

| Code No. | 製品名 | 製品構成 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| DV-0304A | CytoTune®-iPS 2.0 (Academic) | *KOS*、*Klf4*、*C-Myc* 各 100 μL 1 本（≥5 × 10$^6$ CIU/100 μL） | ¥70,000 |
| DV-0305A | CytoTune®-iPS 2.0L (Academic) | *KOS*、*Klf4*、*L-Myc* 各 100 μL 1 本（≥5 × 10$^6$ CIU/100 μL） | ¥70,000 |
| DV-0306A | SeV-L-Myc (Academic) | 100 μL 1 本（≥5 × 10$^6$ CIU/100 μL） | ¥30,000 |
| DV-0307A | SeV-Lin28 (Academic) | 100 μL 1 本（≥5 × 10$^6$ CIU/100 μL） | ¥30,000 |

※これらのキットはアカデミア用です。一般のお客様用キットは、support@mbl.co.jp へお問い合わせください。
※本製品は、カルタヘナ対象品です。ご購入前に各機関における機関内承認が必要になります

【注目】

幹細胞研究 >> 細胞培養関連試薬

Jellyfish Research Laboratories

## 培養細胞の増殖促進剤

# 細胞増殖活性化剤 JelliCollagen®-CGJ

細胞培養で多用される BPE（ウシ脳下垂体エキス）の代替品です。本品を使用することによって、未知成分によるリスクフリーの細胞培養が実現可能です。

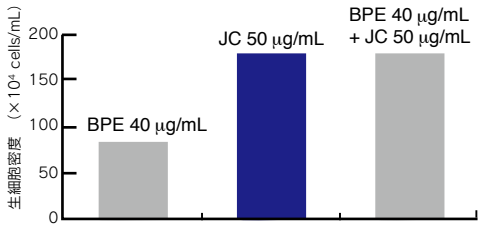
## ■ 特徴

- 上皮系細胞培養の培地に本品を BPE に替えて同量添加することで BPE と同程度の増殖活性が得られます。
- ミズクラゲ由来コラーゲンを精製したもので未知の成分を含みません。
- 中性溶液中でもゲル化も沈澱もしないため、溶液として培地に添加することができます。
- BPE 試薬に比べ安価です。
- 低エンドトキシンです（0.3%溶液 <10 EU/mL）。

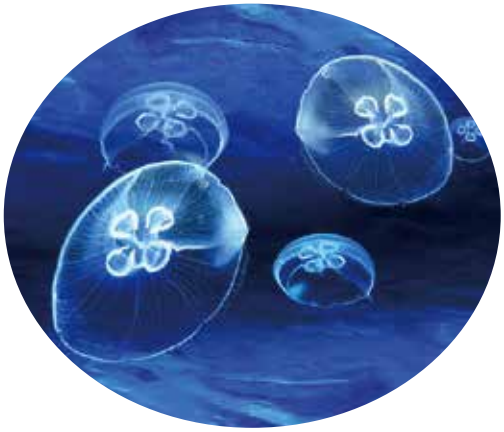
## ■ 使用例

表皮角化細胞 PHK16-0b を用いて、BPE との増殖活性化能を比較しました。終濃度 50 μg/mL になるように添加することにより、BPE 添加と比べ細胞の増殖が速いことが分かります。

**表皮角化細胞 PHK16-0b**




培地：KGM
培養期間：8 日
初期細胞密度　= 20×10⁴ cells/mL
**JC = ミズクラゲ由来コラーゲン**



## ■ 製品リスト

| Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| JF-CGJ20 | 細胞増殖活性化剤 JelliCollagen®-CGJ | 20 mL | ¥12,000 |

**関連製品**

| Code No. | 製品名 | 包装 | 価格（税別） |
|---|---|---|---|
| JF-CCJ20 | 細胞培養用コラーゲン JelliCollagen®-CCJ | 20 mL | ¥10,000 |
| JF-CCJ100 | 細胞培養用コラーゲン JelliCollagen®-CCJ | 100 mL | ¥32,000 |

### Web ページ ID で目的のページへすぐに到達ーかんたん 3 ステップ！

① 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

② WebページID入力ボタンをクリック

③ WebページIDを入力して「OK」をクリックで目的のページへ！

【受託】

## バイオ受託のワンストップショップサービス

# 総合受託サービス

### ■ 今回のラインナップ

1. ウサギモノクローナル抗体作製サービス
2. ポリクローナル抗体作製受託サービス　20-30% OFF キャンペーン
3. 次世代シーケンス受託サービス
4. 次世代シーケンスデータ解析受託サービス
5. 組織標本作成

- かずさDNA研究所
- 株式会社 oncomics
- Beijing B&M Biotech Co.,Ltd.
- 株式会社 CytoLine Solutions
- アメリエフ株式会社
- SCIVAXライフサイエンス株式会社
- 株式会社 新組織科学研究所
- 株式会社 抗体研究所

## Pick up　ウサギモノクローナル抗体作製サービス

ファージディスプレイ技術によりモノクローナル抗体を作製します。脾臓リンパ球から無駄なく抗体遺伝子ライブラリーを作製しますので、細胞融合法と比べ効率よく抗体を取得します。

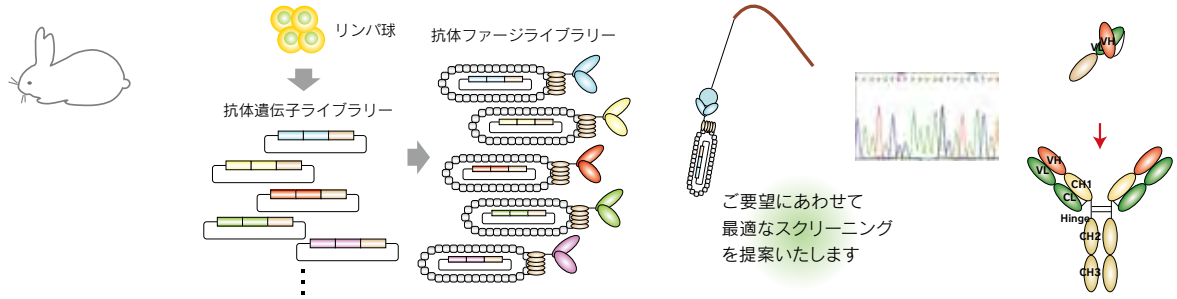
IFA Institute for Antibodies

### ■ 作業概要

**ポイント！**
- ポリクロ―ナル抗体の質を確認した上でファージディスプレイ法によるモノクロ化が可能です。
- ポリクローナル抗体納品後、1年以内であればいつでもモノクロ化をご依頼頂けます。*予めウサギの脾臓摘出、保管をご依頼いただいた場合に限ります。

**取得実績**
- 修飾核酸抗体
- 一点変異抗体
- 複数回膜貫通タンパク質抗体
- 抗イディオタイプ抗体　　など

| 目的の抗原で免疫 | リンパ組織からtotalRNAを抽出、cDNA調製 抗体遺伝子ライブラリーから、抗体ファージライブラリーを作製する | 抗原を使用して特異抗体を単離 | 配列解析 抗体の分類 | IgG化および IgG抗体の調製 |
|---|---|---|---|---|
| 2ヶ月 | 1ヶ月 | 2週間 | 2週間 | 2～3ヶ月 |




ウサギモノクローナル抗体作製サービス　Web ページ ID【910】
http://ruo.mbl.co.jp/custom/monoclonal_rabbit.html

## Pick up　ポリクローナル抗体作製エコノミーサービス　20-30% OFF キャンペーン

キャンペーン

キャンペーン期間：2015 年 12 月 25 日ご注文分まで

キャンペーン特典：さらに！！ご希望の方はウサギ脾臓を 1 年間無償で保管します！

B&M 北京博尔邁生物技術有限会社

その脾臓からファージディスプレイ技術によるウサギモノクローナル抗体作製を行うことも可能です！

（ウサギモノクローナル抗体作製については、前のページおよび http://ruo.mbl.co.jp/custom/monoclonal_rabbit.html Web ページ ID【910】を参照下さい。）

20-30% OFF

### ■ エコノミーセット A （抗原検索 + ペプチド合成 + ウサギ免疫）

★ ペプチド純度 90%以上！

**1 羽免疫**　通常価格 ￥150,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥120,000**（税別）

**2 羽免疫**　通常価格 ￥200,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥160,000**（税別）

★ Affinity 精製を付けるとさらにお得！抗原結合カラムも納品！

**1羽免疫 +Affinity精製（1羽 10 mL）**　通常価格 ￥250,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥175,000**（税別）

**2羽免疫 +Affinity精製（1羽 10 mL）**　通常価格 ￥300,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥210,000**（税別）

**2羽免疫 +Affinity精製（2羽 各 10 mL）**　通常価格 ￥370,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥259,000**（税別）

**2羽免疫 +Affinity精製（2羽 各 5 mL）**　通常価格 ￥320,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥224,000**（税別）

30% OFF

### ■ リン酸化ポリクローナル抗体作製エコノミーセット

（抗原検索 + ペプチド合成 + ウサギ免疫 + Affinity 精製（2 羽 各 20 mL）+ 非リン酸化抗体吸収作業）

★ 2 羽とも Affinity 精製＋非リン酸化抗体吸収作業を実施！
リン酸化ペプチド結合カラム・非リン酸化ペプチド結合カラムも納品！

**2 羽免疫**　通常価格 ￥740,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥518,000**（税別）

30% OFF

### ■ エコノミーセット C （リコンビナントタンパク質ご提供 ～ ウサギ免疫）

★ 抗原結合カラムも納品！

**1羽免疫 +Affinity精製（1羽 10 mL）**　通常価格 ￥150,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥105,000**（税別）

**2羽免疫 +Affinity精製（1羽 10 mL）**　通常価格 ￥200,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥140,000**（税別）

**2羽免疫 +Affinity精製（2羽 各 10 mL）**　通常価格 ￥270,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥189,000**（税別）

**2羽免疫 +Affinity精製（2羽 各 5 mL）**　通常価格 ￥220,000（税別）➡ キャンペーン価格 **￥154,000**（税別）

■ お問い合わせ

抗体作製・ペプチド合成サービス　order@mbl.co.jp

サービス一覧ページ　Web ページ ID【020】
http://ruo.mbl.co.jp/custom/

## Pick up　次世代シーケンス受託サービス　網羅的メタゲノムシーケンス

・メタゲノム DNA を提供いただき、ライブラリーを作製後、シーケンスを実施
・16S 領域のみでなく、網羅的な解析が可能です！

・Hi-Seq 150bp Paired-End、取得データ目安：90Gb、6 億リード

**ライブラリー作製　￥52,000/ サンプル**（税別）

**シーケンス　　￥1,129,000/ レーン**（税別）

＊96 サンプルご依頼時の価格です。品質確認を行う場合には別途追加料金がかかります。

■ お問い合わせ
総合受託サービス　jutaku@mbl.co.jp

## Pick up 次世代シーケンスデータ解析受託サービス

新製品

### ■ VCF 統合解析ソフトウェア QMergeUI が新発売！

比較したい複数の VCF ファイルのサンプル情報をまとめ、
それぞれの変異情報にデータベース情報を付与し、1 枚のエクセルシートに出力するソフトウェアです！

詳細はウェブをご覧ください。　Web ページ ID【911】
http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/sequence_datamining_ngs.html
上記サーバページに新規情報を掲載しています。

■ お問い合わせ
総合受託サービス　jutaku@mbl.co.jp

## プレゼント企画　AZ（アズ）の間違い探し

長野県のMBL伊那研究所にいるAZ（アズ）は
日々の研究の息抜きに伊那の清流・小黒川渓谷を訪れました。

左右のイラストには異なる点が「3個」あります。探してみてね！
MBLウェブサイトより答えをお送りください。
正解の方に抽選で下記プレゼントをお送りします！

【M賞】オリジナル AZ（アズ）テープ　10名様
【B賞】アウトレット対象製品１つ　5名様
【L賞】名古屋名物 宮きしめん　3名様

AZ（アズ）の間違い探しWebページID【122】
http://ruo.mbl.co.jp/az/machigai.html

**応募締め切り　2015 年 9 月 4 日**
**答えは次号発行時に Web ページにて発表！**

＊当選発表は賞品の発送をもってかえさせていただきます。
＊Web応募フォームのコメント欄より下記情報をお送りください。
ご所属、ご住所、間違い探しの答え3つ 、ご希望の賞 、（B賞のみ、次の情報も明記してください：ご希望の製品、ご指定の代理店）
＊B賞についての注意事項
ご希望の製品の「製品名」、「Code No.」、「ご指定の代理店」を明記してください。ご指定の代理店を介してお届けさせて頂きます。
アウトレット品は一覧に表示されていてもご応募いただいた時点で売り切れになっている可能性がございます。その場合は別の商品を選んでいただきますようご了承お願いいたします。

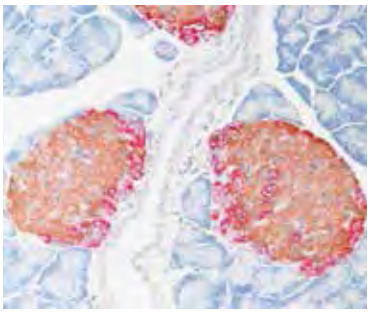
## Pick up　組織標本作製

**・好評です！ご要望に沿った高品質な組織標本を作製いたします。**

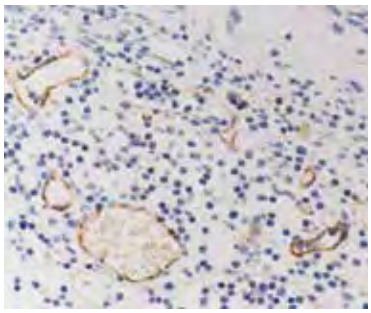
パラフィン / 凍結ブロック作製、薄切切片作製および染色の個別工程でも、お引き受けいたします。
各種染色スライドの鏡検・評価のみでもお引き受けします。
免疫染色は染色条件の不明な抗体も至適染色条件を決定し染色を行います。

### ■ 免疫染色標本作製

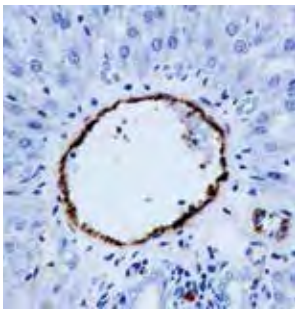
染色条件が確定しているものは勿論、条件の不明な抗体については抗原賦活方法や抗体希釈濃度の検討から行い、至適染色条件を決定し染色を行います。



ラット膵臓ラ氏島
Glucagon（赤色） Insulin（茶色）二重染色



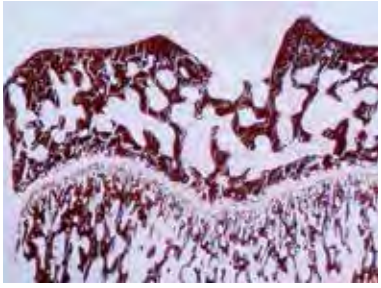
Xenograft
CD31（茶色）染色



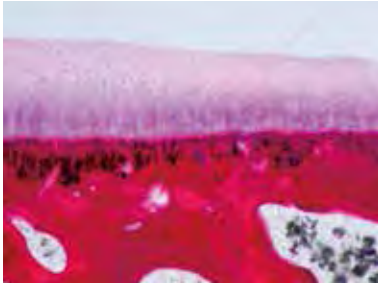
血管内皮細胞 硬組織切片
vWF（茶色）染色

### ■ 樹脂包埋薄切・研磨標本作製

非脱灰の骨組織、インプラントおよびステントなどの金属を含んだ組織を対象にした標本の作製を実施しております。これらの組織は通常のパラフィン包埋切片での作製が困難であり、樹脂に包埋し、研磨およびタングステンカーバイト製の刃を用いた薄切による標本作製を行います。



非脱灰でないと染められないコッサ染色



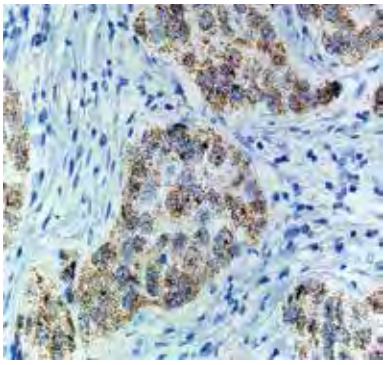
一般的なコールHE染色

硬質の金属ステント

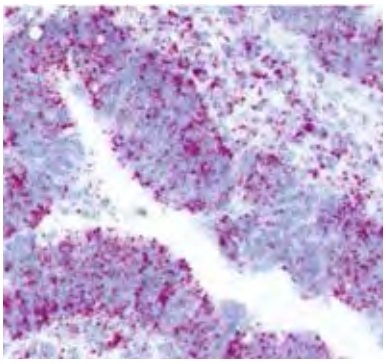
### ■ RNAscope® 染色サービス

RNAscope® は超高感度 *in situ* ハイブリダイゼーションです。MBL にて試薬をご購入いただいたお客様向けに染色サービスを行います。現在はホルマリン固定パラフィン包埋組織に対応しております。

サービス詳細はこちら。
http://www.hslabo.co.jp/experiment/rnascope.html



Human breast cancer FFPE tissue
HER2 expression using RNAscope® HD 2.0 Brown



Human breast cancer FFPE tissue
EGFR expression using RNAscope® HD 2.0 Red

### ■ お問い合わせ

本サービスは MBL グループ企業の（株）新組織科学研究所が提供するサービスとなります。
以下のアドレスよりお問い合わせください。
http://www.hslabo.co.jp/inquiry/

# Information

## チップシェアリング ～マイクロアレイ相乗りサービス～

お客様からのご要望にお応えし、1枚のチップを複数のお客様でシェアするチップシェアリングを始めました。
詳しくはwebページをご覧ください。→ MBL　チップシェアリング　検索
Webページ ID【125】
<対象受託項目>
◎アジレントテクノロジー社（遺伝子発現解析）　測定先：株式会社 Oncomics

## 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。
対象製品は、右記webページをご覧ください。→ http://ruo.mbl.co.jp/news/outlet.html

*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！

## 学会・セミナー情報

● 第7回日本RNAi研究会（2015年8月26日(水)-8月29日(金) グランドプリンスホテル広島）
＊その他学会出展最新情報は Web ページをご覧ください。http://ruo.mbl.co.jp/list/exhibit/
WebページID【126】

## キャンペーンのお知らせ

2015年12月25日 ご依頼分まで

● ポリクローナル抗体作製エコノミーサービス　20-30%OFFキャンペーン
詳しくは、右記webページをご覧ください。→ http://ruo.mbl.co.jp/list/campaign/
WebページID【127】

## 【予告】MBL抗体&蛍光タンパク質写真コンテスト実施！

MBL製の抗体・蛍光タンパク質を使用して取得したデータの写真コンテストを開催いたします。

● 募集期間　2015年9月～11月
● 最優秀賞 1点　MBL RUO TOPICS 表紙およびMBLオリジナルカレンダーへ掲載
● 優秀賞　11点　MBLオリジナルカレンダーへ掲載

＊応募いただいた写真データはMBLのウェブサイトやパンフレット等へ掲載させていただく可能性がございます。
詳細は、2015年9月以降、MBLライフサイエンスサイトをご覧ください。
皆様のご応募をお待ちしております。

↓ご購入はこちら
LINEストアURL
http://line.me/S/sticker/1117942
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

MBLキャラクター
「AZ（アズ）」の詳細はこちら
WebページID【128】

Copyright © 2015 MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD. All Rights Reserved.

2015.08　151099-19101000

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