MBL RUO TOPICS



研究用





がん・細胞周期解析ツール

Special **Topics**

マウス肝臓の発生・再生の研究に役立つ抗体の紹介

監修: 東京大学分子細胞生物学研究所 教授 宮島 篤 先生

< 特集 >

- ◎ がん関連抗原 ELISA Kit ~ Ab-Match シリーズ ~
- ◎ S100 Protein 関連製品
- ◎ 細胞周期関連抗体
- ◎ 変異型 IDH1、IDH2 に対する特異抗体 ~グリオーマの研究に~
- ◎ がんワクチン療法における T 細胞免疫応答のモニタリングツール ~ T-Select MHC Tetramer ~
- ◎ 生細胞の細胞周期の進行を"リアルタイム"に観察できる蛍光プローブ ~ Fucci (Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator) ~

- **<Topics>** ◎ アプリケーションノート ~Anti-His-tag mAb (clone:OGHis) シリーズ~
 - ◎ リコンビナント抗原調製からポリクローナル抗体作製のセットサービス ~ポリクローナル抗体作製エコノミーセット E. F~
 - ◎ IDT 社 カスタム DNA 合成サービス
 - ◎ 遺伝子発現カスケード解析サービス

キャンペーン

- ・アジレント DNA マイクロアレイ受託解析キャンペーン ・糖鎖解析受託サービスー次解析キャンペーン
- ・イルミナ HumanMethylation450 受託解析キャンペーン

* RUO は Research Use Only の略語となります。

がん関連抗原 ELISA Kit ~ Ab-Match シリーズ ~

MBLでは、各種がん抗原を定量できるアッセイ系を取り揃えております。
Ab-Match シリーズは、お客様ご自身でサンドイッチ ELISA を組み立ていただくシステムです。
是非、この機会にご検討下さい。

Ab-Match Assembly Kit



抗原を swELISA で測定するための特異抗体のセットです。抗原捕捉用抗体 (固相抗体)、Standard、検出用ビオチン標識抗体、SA-HRP のセット、もしくは抗原補足用抗体、Standard、検出用 HRP標識抗体のセットのどちらかで構成されています。

Ab-Match Universal Kit



swELISA 作製に必要な試薬とプレートのセットです。ELISA プレート (8 ウェル × 12 ストリップ)、抗原捕捉用抗体固相化バッファー、ブロッキングバッファー、サンプル希釈バッファー、洗浄バッファー (20 x 濃縮)、SA-HRP 希釈バッファー、酵素基質液、停止液で構成されます。

PAP1(REG3α)



膵臓がん

大腸がん

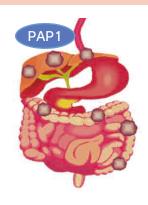
肝臓がん

Ab-Match Assembly Human PAP1(REG3α) Kit

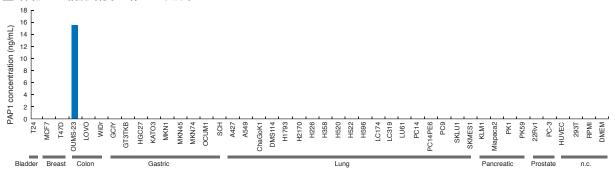
Code No. 5323 包装: 96 wells ¥ 46,000 (税抜)

PAP1 (pancreatitis associated protein 1) は急性膵炎時に膵臓によって過剰発現される膜タンパク質です $^{1)}$ 。膵炎マーカーとしてはアミラーゼやリパーゼ、トリプシンがよく利用されますが、これら成分の血中上昇は一過性であるため、予後診断には向いていません。一方、PAP1 の血中濃度は膵炎の重症度に相関して変化しますので、PAP1 は膵炎の予後マーカーとして利用できます $^{2)}$ 。

また PAP1 は消化器系組織のがんとの関連が知られています。膵臓がんを始め、大腸がんや肝臓がん患者の血清中の PAP1 濃度が健常人に比べて有意に高いことが報告されています $^{3),4)}$ 。 MBL の PAP1-ELISA キットは大腸がん細胞株の OUMS-23 の培養上清中の抗原を捉えます。



■ 株化がん細胞培養上清との反応性



- 1) Dusetti NJ et al. Genomics. 19, 108-114 (1994)
- 2) Iovanna JL *et al.* Gastroenterology. 106, 728–734 (1994)
- 3) Motoo Y et al. Dig. Dis. Sci. 44, 1142-1147 (1999)
- 4) Chen CY *et al.* Clin. Biochem. 38, 520–525 (2005) 5) Levine JE. *et al.* Blood. 119, 3854–3860 (2012)
- 6) Ferrara JL, *et al.* Blood. 119, 3854–3860 (2012)

FAM3D

大腸がん

Ab-Match Assembly Human FAM3D Kit

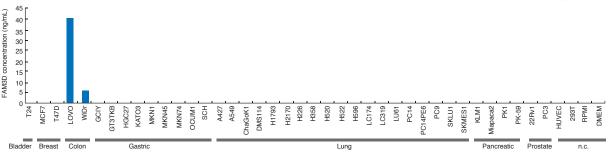
Code No. 5321

包装:96 wells ¥ 46.000 (税抜)

FAM3D(Family with sequence similarity 3、member D、別名EF-7) は成長因子や サイトカインの特徴的な構造である4ヘリックス構造からなり、新しいサイトカインの一 種と言われています。この FAM3 ファミリーは他に FAM3A、FAM3B、FAM3C が知ら れ、いずれも機能や受容体は不明ですが、FAM3Bは膵臓に、FAM3Dは胎盤に、そして FAM3Aと FAM3C は体内に広く分布していることが知られています1)。また大腸がん患者 において FAM3D の発現が上昇することが報告されています²⁾。MBLの FAM3D-ELISA キッ トは大腸がん細胞株である LOVO や WiDr の培養上清中の抗原を捉えることができます。



■ 株化がん細胞培養上清との反応性



- 1) Solmi R et al. Int J Oncol, 25, 1049-4056 (2004)
- 2) Zhu Y et al. Genomics. 80, 144-150 (2002)

NGAL









Ab-Match Assembly Human NGAL Kit

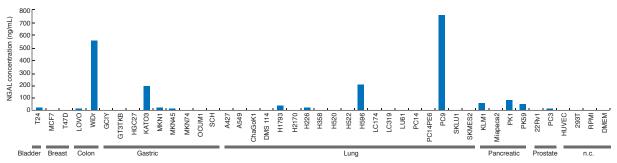
Code No. 5322

包装:96 wells

¥ 46,000 (税抜)

リポカリンの一種である NGAL は健常人の血中や尿中に存在していますが、その量は各種の炎症性疾患や細菌 感染時に上昇することが知られています¹⁾。腎臓移植後の急性腎炎の初期にも IL-18 とともに上昇が見られます²⁾。 また NGAL は心臓バイパス手術時に発生する急性腎機能障害の血中マーカーとされているほか 3、さらに近年で は肥満との関連も報告されています⁴⁾。NGALの一部は matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) と複合体を形成 していますが、これは MMP-9 を分解から守り、酵素活性を維持する役割があると考えられています 5)。またがん との関連においては、様々ながん種において NGAL の発現上昇が確認されています。 NGAL は乳がん患者の尿中 に高値に検出されます⁶⁾。また NGAL はすい臓がん、大腸がん、肝臓がん患者のがん組織中で高発現しているこ とが報告されています⁷⁾。MBL の NGAL-ELISA Kit は、すい臓がん細胞株である KLM1、PK1、PK59、大腸が ん細胞株のWiDr、またH596やPC9など一部の肺がん細胞株の培養上清中の抗原を捉えることができます。

■ 株化がん細胞培養上清との反応性



- 1) Xu SY, Pauksen K, Venge P. Scand J Clin Lab Invest. 55, 125-131 (1995)
- 2) Parikh CR et al. Am J Transplant. 6, 1639-1645 (2006)
- 3) Mishra J et al. Lancet. 365, 1231-1238 (2005)
- 4) Wang Y et al. Clin Chem. 53, 34-41 (2007)
- 5) Yan L et al. J Biol Chem. 276, 37258-37265 (2001)
- 6) Fernández CA et al. Clin Cancer Res. 11, 5390-5395 (2005)
- 7) Furutani M et al. Cancer Letter. 122, 209-214 (1998)

WFDC2

卵巣がん





肺がん

Ab-Match Assembly Human WFDC2 (HE4) Kit

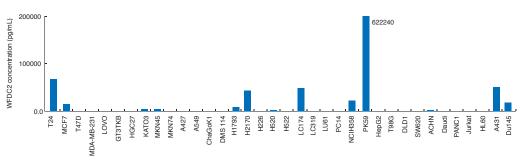
Code No. 5335

包装: 96 wells ¥ 46,000 (税抜)

WFDC2 (WAP Four disulfide core domain protein 2) は HE4 (Human Epididymal Protein 4) とも呼ばれる、WAP ドメインを持つ分泌タンパク質です。当初、精巣上体で発現するタンパク質として単離されましたが $^{1)}$ 、男性生殖器系、呼吸器、鼻咽頭の領域を含む種々の正常組織で発現していることが分かりました。また WFDC2 は、卵巣がん、大腸がん、乳がん、肺がんなどの腫瘍細胞株において強く発現しており $^{2)}$ 、特に卵巣がんにおいては患者血清中に WFDC2 の分泌が認められ $^{3)}$ 、卵巣がんのバイオマーカーとして欧州では既に利用されています。また肺がん患者においても血清中の WFDC2 濃度が健常人と比較して有意に高いことが報告されています $^{4)}$ 。



■ 株化がん細胞培養上清との反応性



- 1) Kirchhoff C et al. Biol Reprod. 45, 350-357 (1991)
- 2) Bingle L, Singleton V, Bingle CD. Oncogene. 21, 2768-2773 (2002)
- 3) Hellström I et al. Cancer Res. 63, 3695-3700 (2003)
- 4) Iwahori K et al. Tumour Biol. 33, 1141-1149 (2012)

REG4









Ab-Match Assembly Human REG4 Kit

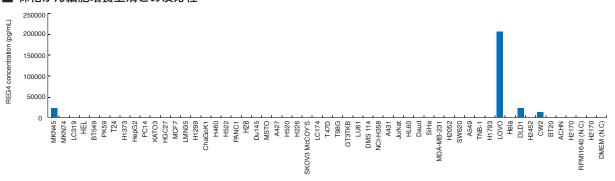
Code No. 5337

包装:96 wells ¥ 46,000 (税抜)

REG4 (Regenerating islet-derived protein 4) は C-type lectin ドメインと糖鎖修飾をもつ分泌タンパク質です。カルシウム非依存性のマンノース特異的なレクチンであり、酸性環境下でもこの結合は維持されます $^{1)}$ 。十二指腸、回腸、盲腸、小腸、膵臓など消化器官に広く発現しており、健常人の大腸での発現は弱いものですが、大腸がん患者では特に強い発現が見られるようになります。クローン病や潰瘍性大腸炎による粘膜の障害においても発現量が増加することが報告されています $^{2)}$ 。

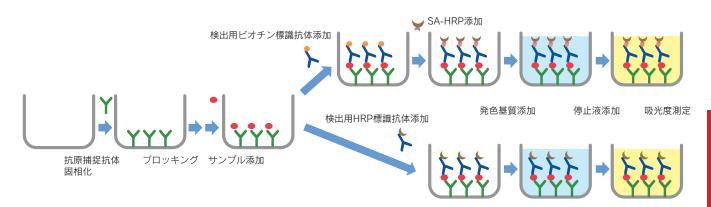
また、REG4 は末梢血中にも分泌され、胃がん、大腸がん、前立腺がん、膵臓がんなどの患者においては、血清中 REG4 濃度は健常人と比較して有意に高値となることが報告されており、特に膵臓がん、胃がんでは、化学療法への感受性との関連についても報告されています^{3), 4)}。

■ 株化がん細胞培養上清との反応性



- 1) Ho MR et al. J Mol Biol. 402, 682-695 (2010)
- 2) Kámáráinen M et al. Am J Pathol. 163, 11-20 (2003)
- 3) Mitani Y et al. Oncogene. 26, 4383-4393 (2007)
- 4) Eguchi H et al. Pancreas. 38, 791-798 (2009)

Ab-Match Kitの測定原理



■ がん関連抗原 ELISA kit 製品

製品コード	製品名	包装	価格 (税抜)	
5323	Ab-Match Assembly Human PAP1 (REG3 $lpha$) Kit	96 wells	¥46,000	P.2 掲載
5321	Ab-Match Assembly Human FAM3D Kit	96 wells	¥46,000	P.3 掲載
5322	Ab-Match Assembly Human NGAL Kit	96 wells	¥46,000	P.3 掲載
5335	Ab-Match Assembly Human WFDC2 (HE4) Kit	96 wells	¥46,000	P.4 掲載
5337	Ab-Match Assembly Human REG4 Kit	96 wells	¥46,000	P.4 掲載
5310	Ab-Match Universal Kit	96 wells	¥12,000	

■ その他 Ab-Match シリーズ関連製品

製品コード	製品名	包装	価格(税抜)
5327	Ab-Match Assembly Human LECT2 Kit	96 wells	¥46,000
5328	Ab-Match Assembly Mouse LECT2 Kit	96 wells	¥46,000
5332	Ab-Match Assembly Mouse IL-33 Kit	96 wells	¥40,000
5338	Ab-Match Assembly Human Elafin (SKALP) Kit	96 wells	¥46,000
5339	Ab-Match Assembly Human IL-37 Kit	96 wells	¥46,000
5330	Ab-Match Assembly Human MICA Kit	96 wells	¥46,000
5331	Ab-Match Assembly Human MICB Kit	96 wells	¥46,000
5333	Ab-Match Assembly Mouse Neuropilin-1 (CD304) Kit	96 wells	¥46,000
5334	Ab-Match Assembly Human Insulin Kit	96 wells	¥46,000
5336	Ab-Match Assembly Human LYPD6B Kit	96 wells	¥46,000

詳しくは MBL ライフサイエンスサイトをご覧ください

MBL Abmatch 検索

http://ruo.mbl.co.jp/product/abmatch/abmatch.html

S100 Protein 関連製品



S100 タンパク質は、細胞種特異的に発現し、2 つの EF-hand を持つカルシウム結合タンパク質であり、現在までに 20 種類のファミリーが確認されています。細胞内シグナル伝達だけでなく、細胞外に分泌され機能することも知られています。S100 タンパク質ファミリーの機能は、複雑で多岐に渡っていると考えられており、未解明の部分が多く残されています。近年、糖化タンパク質 AGE の受容体である RAGE の新規リガンドとして S100 タンパク質が報告されています。CircuLex S100 Protein Detection Kit シリーズは、血清、細胞培養液などのサンプル中の S100 タンパク質ファミリーを高感度に測定できる試薬です。



製品コード	製品名	包装	価格 (税抜)
CY-8057	CircuLex S100A13 ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8058	CircuLex S100A12/EN-RAGE ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8060	CircuLex S100P ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8061	CircuLex S100A8/MRP8 ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8062	CircuLex S100A9/MRP14 ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8063	CircuLex S100A11 ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8064	CircuLex S100A14 ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8073	CircuLex S100A7/Psoriasin ELISA Kit	96 assays	¥98,000
CY-8086	CircuLex S100A4 ELISA Kit Ver.2	96 assays	¥98,000
CY-8095	CircuLex S100A10 ELISA Kit	96 assays	¥98,000

S100 Protein 関連タンパク質や抗体も取り揃えております♪

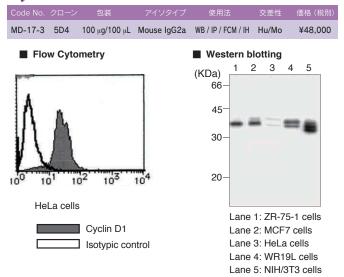
詳しくは MBL ライフサイエンスサイトをご覧ください

MBL S100 protein 検索

細胞周期 関連抗体

Cyclin B1 Securin CENP-A Μ p21WAF1/CIP G2 **Borealin** Cyclin D1 G₁ p21WAF1/CIP Cyclin D2 S Cyclin D3 **PCNA** Cdk4 Cyclin E

Cyclin D1



PCNA

 Code No. クローン
 包装
 アイソタイプ
 使用法
 交差性
 価格(税別)

 MH-12-3
 5A10
 100 μg/100 μL
 Mouse IgG1
 WB / IP / FCM /IC / IH Hu/Mo/Rat
 ¥32,000

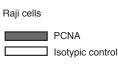
Borealin

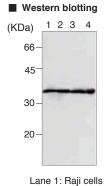
Code No.	クローン	包装	アイソタイプ	使用法	交差性	価格 (税別)
M147-3	1D11	100 μg/100 μ	L Mouse IgG2a	WB / IP / IC	Hu	¥48,000

■ Western blotting

(KDa)

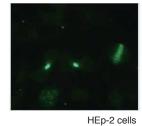
Flow Cytometry

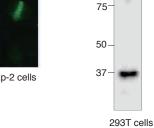




Lane 2: Hep-2 cells Lane 3: WR19L cells Lane 4: PC12 cells

■ Immunocytochemistry





製品コード	製品名	クローン	アイソタイプ	使用法	交差性	包装	価格(税抜)
K0081-3	Anti-p21 WAF1/CIP (Human) mAb	DCS-60	Mouse IgG2a	WB / IP / IH	Hu	100 μg/100 μL	¥20,000
MD-17-3	Anti-Cyclin D1 (Human) mAb	5D4	Mouse IgG2a	WB / IP / FCM / IH	Hu / Mo	100 μg/100 μL	¥48,000
K0064-3	Anti-Cyclin D2 (Human) mAb	DCS-5	Mouse IgG2b	WB / IP / IC	Мо	100 μg/100 μL	¥20,000
K0013-3	Anti-Cyclin D3 (Human) mAb	DCS-22	Mouse IgG1	WB / IP / IH	Hu / Mo / Rat	100 μg/100 μL	¥20,000
K0065-3	Anti-Cdk4 mAb	DCS-156	Mouse IgG1	WB / IH	Hu / Mo	100 μg/100 μL	¥20,000
K0172-3	Anti-Cyclin E (Human) mAb	HE12	Mouse IgG1κ	WB / IC / IH	Hu	100 μg/100 μL	¥30,000
MH-12-3	Anti-PCNA (Proliferating Cell	5A10	Mouse IgG1	WB / IP / FCM /	Hu / Mo / Rat	100 μg/100 μL	¥32,000
	Nuclear Antigen) (Rat) mAb			IC / IH			
M147-3	Anti-Borealin (Human) mAb	1D11	Mouse IgG2a	WB / IP / IC	Hu	100 μg/100 μL	¥48,000
D115-3	Anti-CENP-A (Human) mAb	3-19	Mouse IgG1	WB / IC / IH /ChIP*	Hu	100 μg/100 μL	¥40,000
K0128-3	Anti-Cyclin B1 (Human) mAb	V152	Mouse IgG1	WB / IC / IH	Hu / Mo / Rat / Ham	100 μg/100 μL	¥30,000
K0090-3	Anti-Securin (Pds-1) (Human) mAb	DCS-280	Mouse IgG2aκ	WB / IP / IC / IH	Hu / Mo / Rat	100 μg/100 μL	¥20,000
MI-11-3	Anti-Bromodeoxyuridine mAb	2B1	Mouse IgG1	FCM / IC / IH	Hu	100 μg/100 μL	¥48,000

^{*} 論文で報告されております WB: Western Blotting IH: Immunohistochemistry IC: Immunocytochemistry IP: Immunoprecipitation FCM: Flow Cytometry Hu: Human Mo:Mouse Ham:Hamster

その他の細胞周期関連抗体も取り揃えております♪

詳しくは MBL ライフサイエンスサイトをご覧ください

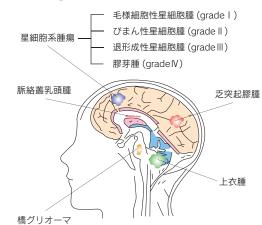
MBL ライフサイエンスサイト



変異型 IDH1、IDH2 に対する特異抗体 ~グリオーマの研究に~

Isocitrate dehydrogenase (IDH: イソクエン酸デヒドロゲナーゼ) は、イソクエン酸と α ケトグルタル酸とを相互に変換する酸化還元酵素であり、ヒトでは IDH1、IDH2、IDH3 の3つのサブタイプが知られています。そのうち、IDH1 と IDH2 は、WHO 分類の grade II、III のグリオーマや、low grade のグリオーマから進行した grade IV のグリオブラストーマ(secondary glioblastoma)において、高頻度に点突然変異が見られます。一方で、グリオブラストーマとして初発するグリオーマ(primary/de novo glioblastoma)ではほとんど変異が検出されません。また、臨床的に重要なこととして、変異型 IDH1/2 が検出されるグリオーマの予後は、野生型 IDH1/2 の予後よりも格段に良いことがあげられます。そのため、IDH1/2 の変異はグリオーマの予後診断マーカーとして有用であることが報告されています。

神経膠腫 (glioma)



グリオーマに見られる IDH1 の変異部位は、132 番目のアルギニン残基に特異的であり、そのおよそ 90%は R132H 型の変異です。

次に R132C や R132S 型変異が多く、またレアな変異型として R132G、R132L、R132V、R132P 型が報告されています。一方、IDH2 の変異部位は 172 番目のアルギニン残基に特異的であり、その半数以上が R172K 型の変異です。次に多いのが R172M、R172W 型の変異です。また最近新たに R172T 型の変異も報告されました。

IDH1 や IDH2 の遺伝子変異はグリオーマだけでなく、一部の急性骨髄性白血病(AML)や、軟骨肉種、オリエ病、マフッチ症候群にも認められます。最近、変異型 IDH1/2 に対する低分子阻害薬も開発され、がん治療において効果が期待されます。個別化医療の視点から、IDH の研究はますます注目されています。

近年、開発が進められている IDH1/2 の変異型に対する特異的なモノクローナル抗体を用いることで、変異型の IDH1/2 を簡便かつ特異的に検出することができます。特に病理検体において腫瘍占有比率が低い場合にその威力を発揮します。また、これらの抗体の多くが免疫組織染色だけでなく、ウェスタンブロッティングや免疫沈降にも使用可能です。

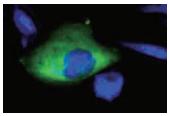
IDH1

	Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	使用法	交差性	内容量	価格 (税別)
	D309-3	Anti-IDH1 mAb	RMab-3	Mouse IgG1κ	WB / IP / IH	Hu / Ham	$100~\mu g/100~\mu L$	¥34,000
NEW	D336-3	Anti-IDH1 mAb	RcMab-1	Rat IgG2aκ	WB / IC*	Hu / Ham	100 μ g/100 μ L	¥34,000
売れてます	D299-3	Anti-IDH1-R132H (Human) mAb	HMab-1	Mouse IgG1κ	WB / IP / IC / IH	Hu	100 μg/100 μL	¥34,000
	D300-3	Anti-IDH1-R132S (Human) mAb	SMab-1	Mouse IgG1κ	WB/IP/IC/IH	Hu	100 μg/100 μL	¥34,000
NEW	D331-3	Anti-IDH1-R132G (Human) mAb	GMab-r1	Rat IgG2aк	WB / IC*	Hu	100 μg/100 μL	¥34,000

IDH1-R132G

Code No.	クローン	包装	アイソタイプ	使用法	交差性	価格(税別)	
D331-3	GMab-r1	100 μg/100μL	Rat IgG2aк	WB / IC*	Hu	¥ 34,000	

■ Immunocytochemistry ※



Cell: Human IDH1-R132G/CHO Green: IDH1-R132G mAb Blue: TO-PRO-3

Western blotting
(KDa) 1 2 3
250 —
150 —
100 —
75 —
50 —

Lane 1: IDH1 (Wild type) Lane 2: IDH1-R132G Lane 3: IDH1-R132L

※データご提供:東北大学大学院 医学系研究科 加藤 幸成 先生

【製品使用文献】

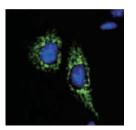


	Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	使用法	交差性	内容量	価格 (税別)
	D311-3	Anti-IDH2 mAb	RMab-22	Mouse IgG2bκ	WB / IP / IC*	Hu / Ham	100 μg/100 μL	¥34,000
NEW	D330-3	Anti-IDH2 mAb	KrMab-3	Mouse IgG2bк	WB / IC	Hu / Ham	100 μg/100 μL	¥34,000
	D328-3	Anti-IDH2-R172K (Human) mAb	KMab-1	Rat IgG2b _κ	WB	Hu	100 μg/100 μL	¥34,000
NEW	D337-3	Anti-IDH2-R172M (Human) mAb	MMab-1	Rat IgG2bк	WB / IC* / IH*	Hu	100 μg/100 μL	¥34,000
NEW	D338-3	Anti-IDH2-R172W (Human) mAb	WMab-1	Rat IgG2bκ	WB / IC* / IH*	Hu	100 μg/100 μL	¥34,000

IDH2-R172M

Code No.	クローン	包装	アイソタイプ	使用法	交差性	価格(税別)
D337-3	MMab-1	100 μg/100 μL	Rat IgG2b κ	WB / IC*/ IH*	Hu	¥ 34,000

■ Immunocytochemistry ※



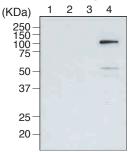
Cell: Human IDH2-R172M/CHO

Green: IDH2-R172M mAb

Blue: TO-PRO-3

※データご提供:東北大学大学院 医学系研究科 加藤 幸成 先生

■ Immunohistochemistry※ ■ Western blotting



Lane 1: IDH2 (Wild type) Lane 2: IDH2-R172K Lane 3: IDH2-R172W Lane 4: IDH2-R172M

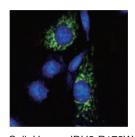
【製品使用文献】

1) Kaneko MK et al. Establishment of novel monoclonal antibodies KMab-1 and MMab-1 specific for IDH2 mutations. Biochem Biophys Res Commun. 432, 40–45 (2013) (PMID:23376717) (WB, IC, IH)

IDH2-R172W

Code No.	クローン	包装	アイソタイプ	使用法	交差性	価格(税別)
D338-3	WMab-1	100 μg/100 μL	Rat IgG2b κ	WB / IC*/ IH*	Hu	¥ 34,000

■ Immunocytochemistry※



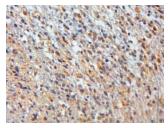
Cell: Human IDH2-R172W/CHO

Green: IDH2-R172W mAb

Blue: TO-PRO-3

■ Immunohistochemistry※

Glioma (IDH2-R172M)



Glioma (IDH2-R172W)

Western blotting (KDa) 1 2 3 4 250 - 150 - 100 - 75 - 50 - 37 - 25 - 20 - 100

Lane 1: IDH2 (Wild type) Lane 2: IDH2-R172K Lane 3: IDH2-R172W Lane 4: IDH2-R172M

【製品使用文献】

※データご提供:東北大学大学院 医学系研究科 加藤 幸成 先生

¹⁾ Kato Y, Kaneko MK, Generation of a novel monoclonal antibody WMab-1 specific for IDH2-R172W mutation. Biochem Biophys Res Commun. 433, 374-378 (2013) (PMID:23524262) (WB, IC, IH)

^{*} 論文で報告されております

T-Select MHC Tetramer

がんワクチン療法における T 細胞免疫応答のモニタリングツール



がんワクチン療法

がんワクチン療法は、患者自身の免疫細胞を活性化してがん細胞を攻撃させ、がんを消滅、あるいは退縮させることを目的とした治療法です。標準治療と緩和医療の隙間を埋める位置付けで、現在がんワクチン療法の研究が盛んに行われています。がんワクチン療法の効果は、患者の免疫細胞ががんを攻撃できる状態になるかどうかに左右されます。従って、患者の状態が悪化する前にがんワクチン療法を実施することができれば、より効果的に奏功すると考えられており、将来的には抗がん剤や放射線療法に代わる、あるいは併用可能な治療法として承認されることが期待されています。

がんワクチン療法の歴史

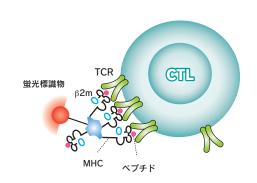
1991 年、患者から分離増幅させた細胞傷害性 T 細胞(Cytotoxic T Lymphocyte、CTL)が、がん細胞で高発現している MAGE (Melanoma Antigen) と呼ばれるがん抗原を特異的に認識し、がん細胞を殺傷することが報告されました $^{1)}$ 。 また、1994 年には CTL ががん細胞表面上の MHC(Major Histocompatibility Complex、ヒトでは HLA と呼ばれます)に提示されたペプチド断片を認識して殺傷するメカニズムが報告されました $^{2)}$ 。その後、世界中の研究者によって HLA に提示される様々なペプチド断片が同定されました。1998 年に報告されたメラノーマ(悪性黒色腫)を対象とするがんペプチドワクチン療法は驚くべき臨床効果を上げ、がん免疫療法はまたたく間に注目を集めました $^{4)}$ 。その後、ペプチドを皮下あるいは皮内に接種するがんペプチドワクチン療法は抗原特異的な免疫療法のひとつとして、世界的な規模で研究が進められています。

がんワクチン療法の特徴と EBM (Evidence-Based Medicine)

がんワクチン療法の特徴のひとつとして、ペプチドや蛋白質など、投与した物質そのものはがんに直接ダメージを与えないということが挙げられます。そのため、重篤な副作用が現在の標準療法と比較して少ないという利点がある反面、患者の免疫が本当に活性化しているのか、本当にがんを攻撃できる細胞が誘導できているのかを、免疫モニタリングで確かめる必要があります。

免疫モニタリング

1996年、Altman らによって、抗原特異的な CTL を検出することが可能な MHC テトラマー試薬が開発されました ³⁾。抗原特異的 CTL は、それまでクロムリリースアッセイ法などによる細胞傷害性や IFN-γ などのサイトカイン産生などによって間接的にしか検出できませんでしたが、MHC テトラマー試薬が開発されたことにより、特異性を直接証明することが可能になりました。この MHC テトラマー試薬を用いて、がん抗原特異的 CTL が患者生体内に誘導されているかをモニタリングすることは、がんワクチン療法の実用化には必要不可欠と考えられており、国内外で MHC テトラマー試薬を用いたがんワクチン療法対象患者の免疫モニタリングの標準化が進められています。



<参考文献>

- 1) van der Bruggen P et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science. 254, 1643–1647 (1991)
- 2) Cox AL et al. Identification of a peptide recognized by five melanoma-specific human cytotoxic T cell lines. Science. 264, 716–719 (1994)
- 3) Altman JD et al. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. Science. 274, 94-96 (1996)
- 4) Rosenberg SA et al. Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. Nat Med. 4, 321–327 (1998)



3本まとめ買い 6本まとめ買い 希望納入価格 **30**%0FF **45**%0FF

190,000円/本 → 133,000円/本 104,500円/本 180,000円/本 → 126,000円/本 99,000円/本

大まとめ買い特価対象品

						W C 653	_ '	т так том ра	
						Code	e no.		
抗原名	MHC	配列	位置 (aa)		PE 標識 50 tests	価格(税別)		票識 (コート* 末尾 -2) 標識 (コート* 末尾 -3) 50 tests	価格(税別)
がん関連(Huma	n)								
CEA	A*02:01	YLSGADLNL	605-613	大	TS-M080-1	¥190,000	大	TS-M080-2	¥190,000
EphA2	A*02 : 01	TLADFDPRV	883-891	大	TS-M084-1	¥190,000	大	TS-M084-2	¥190,000
gp100	A*02:01	ITDQVPFSV	209-217		TS-0014-1	¥190,000	^	TS-0014-2	¥190,000
gp100	A*02:01	KTWGQYWQV	154-162		TS-0035-1C	¥190,000		TS-0035-2C	¥190,000
gp100	A*02:01	YLEPGPVTA	280-288	大	TS-M082-1	¥190,000	大	TS-M082-2	¥190,000
gp100 (mutant)	A*02:01	IMDQVPFSV	209-217		TS-0013-1C	¥190,000		TS-0013-2C	¥190,000
gp100-intron 4	A*24 : 02	VYFFLPDHL	170-178	大	TS-M089-1	¥190,000	大	TS-M089-2	¥190,000
Her-2/neu	A*02:01	KIFGSLAFL	369-377		TS-0015-1C	¥190,000		TS-0015-2C	¥190,000
Her-2/neu	A*02 : 01	RLLQETELV	689-697		TS-0016-1	¥190,000		TS-0016-2	¥190,000
HM1.24	A*02 : 01	KLQDASAEV	126-134	大	TS-M083-1	¥190,000	大	TS-M083-2	¥190,000
hTERT	A*24:02	VYGFVRACL	461-469	大	TS-M010-1	¥190,000		13-10003-Z	+100,000
MAGE-A1	A*02:01	KVLEYVIKV	278-286	大	TS-M070-1	¥190,000	大	TS-M070-2	¥190,000
MAGE-A1	B*07:02	RVRFFFPSL	289-297	大	TS-M070-1	¥190,000	大	TS-M070-2	¥190,000
MAGE-A10	A*02:01	GLYDGMEHL	254-262	大	TS-M078-1	¥190,000	大	TS-M078-2	¥190,000
MAGE-A2	A*02:01	YLQLVFGIEV	157-166	大	TS-M078-1	¥190,000	大	TS-M070-2	
MAGE-A2	A*24:02	EYLQLVFGI	156-164	大	TS-M073-1	¥190,000	大	TS-M073-2	¥190,000
MAGE-A2	A*01:01		168-176		TS-M074-1	¥190,000		TS-M074-2	¥190,000
MAGE-A3		EVDPIGHLY		大工		¥190,000	大工		
	A*02 : 01	KVAELVHFL	112-120	大工	TS-M075-1	•	大工	TS-M075-2	¥190,000
MAGE-A3	A*02:01	FLWGPRALV	271-279	大工	TS-M076-1	¥190,000	大工	TS-M076-2	¥190,000
MAGE-A3	A*24:02	IMPKAGLLI	195-203	大	TS-M077-1	¥190,000	大	TS-M077-2	¥190,000
Mart-1	A*02:01	ELAGIGILTV	26-35		TS-0009-1C	¥190,000		TS-0009-2C	¥190,000
Merkel cell polyomavirus large T antigen	A*24 : 02	EWWRSGGFSF	92-101	大	TS-M091-1	¥190,000	大	TS-M091-2	¥190,000
MUC1	A*02 : 01	LLLLTVLTV	12-20	大	TS-M088-1	¥190,000	大	TS-M088-2	¥190,000
NY-ESO-1	A*02 : 01	SLLMWITQC	157-165	大	TS-M011-1	¥190,000	大	TS-M011-2	¥190,000
p53	A*02 : 01	LLGRNSFEV	264-272	大	TS-M081-1	¥190,000	大	TS-M081-2	¥190,000
Proteinase 3(PR-1)	A*02:01	VLQELNVTV	169-177		TS-0017-1	¥190,000		TS-0017-2	¥190,000
PSA	A*02 : 01	KLQCVDLHV	146-154	大	TS-M087-1	¥190,000	大	TS-M087-2	¥190,000
SSX-2	A*02 : 01	KASEKIFYV	41-49	大	TS-M079-1	¥190,000	大	TS-M079-2	¥190,000
Survivin	A*02 : 01	LMLGEFLKL	96-104	大	TS-M085-1	¥190,000	大	TS-M085-2	¥190,000
Survivin-2B	A*24 : 02	AYACNTSTL	80-88	大	TS-M025-1	¥190,000			
tyrosinase	A*02 : 01	YMDGTMSQV	368-376		TS-0019-1C	¥190,000		TS-0019-2C	¥190,000
tyrosinase	A*24 : 02	AFLPWHRLF	206-214	大	TS-M090-1	¥190,000	大	TS-M090-2	¥190,000
WT1	A*02 : 01	RMFPNAPYL	126-134	大	TS-M016-1	¥190,000	大	TS-M016-2	¥190,000
WT1(mutant)	A*24 : 02	CYTWNQMNL	235-243	大	TS-M014-1	¥190,000	大	TS-M014-2	¥190,000
Negative Tetran									
Negative	A*02:01	配列開示できません			TS-0029-1C	¥190,000		TS-0029-2C	¥190,000
HIV env gp160	A*24 : 02	RYLRDQQLL	584-592		TS-M007-1	¥110,000		TS-M007-2 TS-M007-3	¥110,000
がん関連(Mous	e)			•					
CEA	H-2D ^b	EAQNTTYL	526-533	大	TS-M518-1	¥180,000			
Erk1 156Q	H-2K ^d	QYIHSANVL	156-164	大	TS-M545-1	¥180,000	大	TS-M545-2	¥180,000
Human gp100	H-2D ^b	KVPRNQDWL	25-33	大	TS-M505-1	¥180,000	大	TS-M505-2	¥180,000
Human HER2/neu	H-2K ^d				TS-M526-1	¥180,000		13-101303-2	+100,000
JAK1	H-2K	TYLPTNASL	63-71	大			大	TS-M544-2	¥180 000
Mouse an 100	H-2Db	SYFPEITHI EGSRNODWI.	367-375 25-33	大	TS-M544-1	¥180,000	大 大	TS-M546-2	¥180,000
MUDISE OD LUC	I - /	EGSRNODWI.	77-33	- A	1 2-1/12/40-1	+ 100 000		1 >=1/12/40-7	+ 1 5 0 0

CEA	H-2D ^b	EAQNTTYL	526-533	大	TS-M518-1	¥180,000			
Erk1 156Q	H-2K ^d	QYIHSANVL	156-164	大	TS-M545-1	¥180,000	大	TS-M545-2	¥180,000
Human gp100	H-2D ^b	KVPRNQDWL	25-33	大	TS-M505-1	¥180,000	大	TS-M505-2	¥180,000
Human HER2/neu	H-2K ^d	TYLPTNASL	63-71	大	TS-M526-1	¥180,000			
JAK1	H-2K ^d	SYFPEITHI	367-375	大	TS-M544-1	¥180,000	大	TS-M544-2	¥180,000
Mouse gp100	H-2D ^b	EGSRNQDWL	25-33	大	TS-M546-1	¥180,000	大	TS-M546-2	¥180,000
P815A P1A	H-2L ^d	LPYLGWLVF	35-43	大	TS-M519-1	¥180,000			
TRP-2	H-2K ^b	SVYDFFVWL	180-188		TS-5004-1C	¥190,000		TS-5004-2C	¥190,000
WT1	H-2D ^b	RMFPNAPYL	126-134	大	TS-M504-1	¥180,000	大	TS-M504-2	¥180,000

Negative Tetramer (Mouse)

SIY	H-2K ^b	SIYRYYGL	_		TS-M008-1	¥85,000			
β-galactosidase	H-2K ^b	DAPIYTNV	96-103	大	TS-M501-1	¥180,000	大	TS-M501-2	¥180,000
β-galactosidase	H-2L ^d	TPHPARIGL	876-884	大	TS-M511-1	¥180,000			

[※]ご使用になるテトラマー試薬の特異性を判断するために、同じ allele で違う抗原に対するテトラマー試薬をネガティブコントロールとして対照に用いることをお勧めします。 %上記テトラマー試薬は一例です。製品情報は、弊社 web 又は製品カタログをご確認ください。

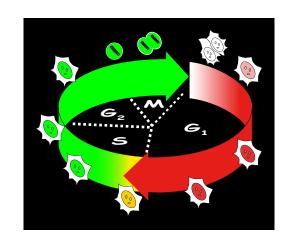
Amalgaam

Fucci (Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator)

生細胞の細胞周期の進行を"リアルタイム"に

観察できる蛍光プローブ

- ◎細胞の増殖や分化、がん細胞の挙動などの生命現象に おける、細胞周期の時間的、空間的なパターンをイメー ジングすることが出来ます。
- ◎純国産蛍光タンパク質である緑色 mAG1 とオレンジ色 mKO2 を用いています。
- S/G₂/M 期特異的に細胞のシルエットを描出する
 pFucci-S/G₂/M Green(N+C) も取り揃えております。



■Fucci とは

Fucci (Fluorescent Ubiqutination-based Cell Cycle Indicator: フーチ)は、生細胞の細胞周期の進行を"リアルタイム"に観察することが出来る蛍光プローブです。Fucci は、細胞周期の特定の時期にのみ存在する Geminin と Cdt1 という 2 つのタンパク質に、それぞれ緑色 (monomeric Azami-Green1: mAG1)とオレンジ色 (monomeric Kusabira-Orange2: mKO2)の蛍光タンパク質を融合して細胞周期を可視化できるようにしたプローブです。これらを細胞に導入すると、S/ G_2/M 期に緑色、 G_1 期にオレンジ色の蛍光が核に観察されます。

Geminin は $S/G_2/M$ 期に増加し、 G_1 期には存在しません。一方 Cdt1 は G_1 期に増加し、 $S/G_2/M$ 期には存在しません。このような細胞周期依存的なタンパク質の調節は、ユビキチンープロテアソーム系と呼ばれる選択的なタンパク質分解反応により厳密に制御されています。このシステムを利用したのが Fucci です。Fucci では、Geminin の細胞周期依存的分解に関わる領域、アミノ酸 1 番から 110 番までを、同様に Cdt1 の分解に関わる領域、アミノ酸 30 番から 120 番までを、蛍光タンパク質と融合しています。

Fucci は、細胞周期を可視化するためのツールであり、個体の発生、分化、再生、がん化など、細胞周期と関連する生命現象を解明するのに有効です。

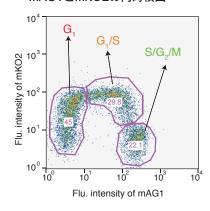
[用語説明]

Cdt1: Cdc10 dependent transcript 1. DNA 複製のライセンス化制御因子。G₁ 期に複製開始点に局在し、一度複製された DNA が 再複製されないように制御している。G₁ 期に発現量が高いが、S 期に入るとユビキチンープロテアソーム系により分解される。

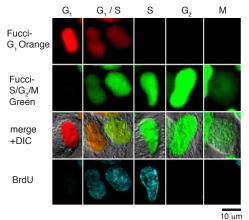
Geminin: DNA 複製のライセンス化阻害因子。S 期に、一度複製が開始されたゲノムの複製開始地点へのライセンス化因子の結合を

阻害する。M 期から G_1 期にかけて、ユビキチンープロテアソーム系により分解される。

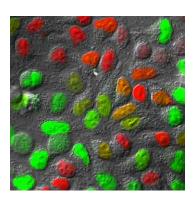
■ Ar 488 nm laser励起による mAG1とmKO2の同時検出



■ Fucci 安定発現細胞株が示す 細胞周期と蛍光発色パターン



■ Fucci 安定発現細胞株



資料提供:独立行政法人 科学技術振興機構 ERATO 宮脇生命時空間情報プロジェクト/独立行政法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 細胞機能探索技術開発チーム 阪上 - 沢野 朝子 先生,宮脇 敦史 先生

Amalgaam

Fucci 製品情報

Code no.	製品名	内容量	価格(税別)
AM-V9001	pFucci-G ₁ Orange (Cloning vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9003	pFucci-G ₁ Orange (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9010	pFucci-S/G ₂ /M Green-Hyg (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9014	pFucci-S/G₂/M Green (Cloning vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9016	pFucci-S/G ₂ /M Green (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9030	pFucci-S/G ₂ /M Green(N+C)-Hyg (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9034	pFucci-S/G ₂ /M Green(N+C) (Cloning vector)	20 μg	¥59,000
AM-VS0601	Fucciセット (AM-V9001 + AM-V9014)	20 μg + 20 μg	¥98,000
AM-VS0605	Fucci セット (AM-V9001 + AM-V9034)	20 μg + 20 μg	¥98,000
AM-VS0607	Fucci セット (AM-V9003 + AM-V9010)	20 μg + 20 μg	¥98,000
AM-VS0608	Fucciセット (AM-V9003 + AM-V9030)	20 μg + 20 μg	¥98,000

~ Amalgaam 社による"Fluoppi"技術紹介のご案内 ~

新しい蛋白質間相互作用解析技術 "Fluoppi" について、以下のセミナー・シンポジウムの機会に、口頭発表および 企業ブース展示にて紹介させていただきます。皆様のお越しを心よりお待ちしております。

「光学イメージングによる生体機能解明への挑戦」企業講演

日時: 2013年6月4日

会場: UDX-GALLERY NEXT 1, 2 (秋葉原 UDX 4F)

「第65回日本細胞生物学会大会」ランチョンセミナー

日時: 2013年6月19日12:10-13:00

会場: C 会場(ウインク愛知 5 階)

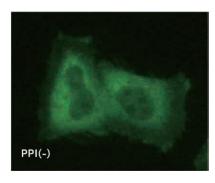
※ランチョンセミナーは、株式会社クロモリサーチによるヒト人工染色体(HAC)のご紹介との2演題です。

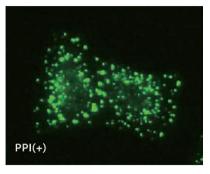
新しい蛋白質間相互作用解析技術『Fluoppi』

蛋白質間相互作用(Protein-Protein Interaction, PPI) はあらゆる生物学的応答の基礎であり、近年は interactomics の 発展に伴い、特に創薬分野では、GPCR や Kinase に次ぐ次世代の創薬標的として大変注目を集めています。

然しながら、真の PPI は細胞内に高密度で共存するその他の物質から少なからず影響を受け、そのネットワークはシグナル伝達が起こる毎にダイナミックに変化することも明らかにされています。

蛍光タンパク質を利用したバイオイメージング技術の開発を目的とする Amalgaam 有限会社は、この様な複雑な生理的環境下での PPI を正しく理解する為、生きた細胞で簡便に素早く測定する新しい技術 "Fluoppi"を開発しました。本技術は、蛍光タンパク質の特性を利用した技術ですが、既に知られている FRET、FRAP、BiFC 法等とは全く異なる原理で、細胞内での PPI を蛍光輝点(Foci)として検出します。 Foci は PPI が起こる地点で直ちに形成され、阻害剤により速やかに解離(蛍光の分散)しますので、細胞内の様々な局在で PPI を経時的に追跡することもできます。





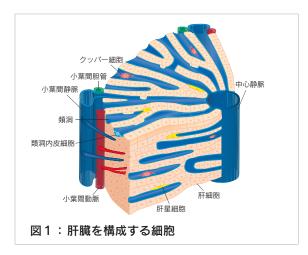
マウス肝臓の発生・再生の研究に 役立つ抗体の紹介



監修:東京大学分子細胞生物学研究所 教授 宮島 篤 先生

肝臓:巨大な化学工場

肝臓は動物で最大の臓器であり、糖やタンパク質などの代 謝、解毒作用、胆汁の産生、アルブミンの産生など多くの生理 機能を有することから、生体の化学工場とも呼ばれています。こ れらの機能は肝臓の実質細胞が担当していますが、その他にも 非実質細胞に分類される肝類洞内皮細胞(マーカー: Lyve-1, Stabilin-2)、クッパー細胞(マーカー: F4/80)、肝星細胞(マーカー: p75NTR)、ピット細胞、胆管上皮細胞(マーカー: EpCAM)、 中皮細胞(マーカー: Podocalyxin1、MsIn) などが存在し、こ れらの細胞間の相互作用が肝臓の多様な機能の発揮に極めて重 要とされています(図1)。また、肝臓は非常に再生能が高く、マ ウスモデルでは肝臓の70% を切除しても7-10日でほぼ元の 重量に戻ることが知られています。昨今、肝臓疾患の治療法の 最終手段として、生体肝移植が実施されていますが、ドナーとレ

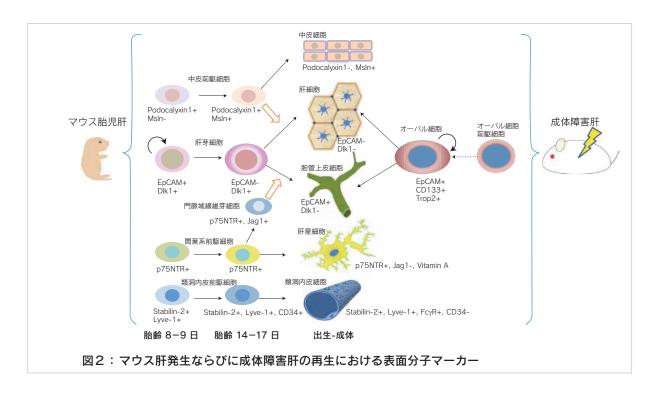


シピエント双方の安全性を高めるためにも肝再生の分子メカニズムの解明が急がれています。

また近年、ヒアルロン酸の受容体である Stabilin-2 が肝類洞内皮細胞の細胞表面に発現していることが明らかになりま した10。興味深いことに担癌マウスにおいて Stabilin-2 の発現を抑制すると血中ヒアルロン酸濃度が上昇し、癌の転移が 抑制されることが実験的に示されています2)。

肝発生と細胞表面分子

マウスにおいて肝臓発生の初期のイベントとして、前腸の内胚葉が心臓中胚葉からの FGF シグナルと、横中隔からの BMP シグナルを受けることで肝芽細胞(マーカー: Dlk1, EpCAM)への分化の運命が決定づけられます。肝芽細胞は その後、中皮前駆細胞(マーカー: Podocalyxin1, MsIn)からの作用を受けて増殖するとともに³⁾、一方で門脈域繊維 芽細胞(マーカー:p75NTR, Jag1)の作用を受けると胆管細胞へと分化します $^{4,5)}$ (図2)。Dlk1 に対する特異抗体を 用いることにより、胎児肝臓から Dlk1 陽性の肝芽細胞を効率よく分離することができます 6),7)。分離した肝芽細胞は in vitro で培養が可能であり、肝実質細胞ならび胆管上皮細胞に分化させることが可能です(図3)。



肝臓の再生とオーバル細胞

肝実質細胞の増殖が阻害される状況や重篤な肝障害時に陥ると、胆管付近に未分化性を有した小型の特殊な細胞が出現することが知られており、げつ歯類ではオーバル細胞と呼ばれています。そしてこのオーバル細胞が肝実質細胞ならびに胆管上皮細胞に分化・増殖することで肝臓が再生されてゆきます。オーバル細胞の細胞表面には EpCAM と EpCAM と EpCAM と EpCAM と EpCAM と EpCAM にはます(図2)。EpCAM はオーバル細胞だけでなく、正常肝の胆管上皮細胞にも発現しますが、EpCAM に特異的に発現しています。特異抗体で分離された EpCAM 陽性細胞の中には、増殖能が高く肝実質細胞にも胆管上皮細胞にも分化できる細胞が含まれることがわかっています。EpCAM 陽性の肝幹細胞様の細胞が存在していること、逆にオーバル細胞は障害肝に出現する一過性の増殖細胞であることが示唆されています。また最近、オーバル細胞の出現には EpCAM をすることが報告されました。EpCAM にないます。また最近、オーバル細胞の出現には EpCAM をすることが報告されました。EpCAM にないます。また最近、オーバル細胞の出現には EpCAM をすることが報告されました。EpCAM にないます。また最近、オーバル細胞の出現には EpCAM をすることが報告されました。EpCAM にないます。また最近、オーバル細胞である EpCAM にないます。

東京大学分子細胞生物学研究所の宮島篤教授の研究室では、マウス肝臓の発生や障害肝における再生メカニズムに対して先駆的な研究を行い、これまでに様々な表面抗原を精力的に同定してきました ^{10),11)}。当社は、宮島先生らによって開発された表面抗原マーカーに対する特異抗体を数多く取り揃えております。これらの特異抗体を用いて分取・回収された細胞の解析を通じて、肝臓発生・再生の分子メカニズムがより詳細に解明されることが期待されます。

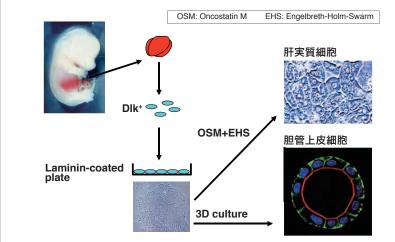


図3: 胎児肝から抗Dlk1 抗体で分離したDlk1 陽性細胞を *in vitro* 培養し、 肝実質細胞あるいは胆管上皮細胞に分化させることができます^{6),7)}。

- Nonaka H, et al., Biochem Biophys Res Commun. 375, 256-260 (2008), PMID: 18706884
- 2) Hirose Y, et al., Proc Natl Acad Sci USA. 109, 4263-4268 (2012), PMID: 22371575
- Onitsuka I, et al., Gastroenterology. 138, 1525-1535 (2010), PMID: 20080099
- Suzuki K, et al., Gastroenterology. 135, 270-281 (2008), PMID: 18515089
- Tanimizu N and Miyajima A, J Cell Sci. 117, 3165-3174 (2004), PMID: 15226394
- Tanimizu N, et al., J Cell Sci. 116, 1775-1786 (2003), PMID: 12665558
- Tanaka M, et al., Mech Dev.126, 665-676 (2009), PMID:19527784
- 8) Okabe M, *et al.*, Development. 136, 1951-1960 (2009), PMID: 19429791
- 9) Takase HM, *et al.*, Genes Dev. 27, 169-181(2013), PMID: 23322300
- Miyaoka Y, et al., Curr Biol. 22, 1166-1175 (2012), PMID: 22658593
- 11)Tanaka M, *et al.*, J Biochem. 149, 231-239 (2011), PMID: 21217146

■ 肝臓関連抗体

Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	容量	使用法	交差性	価格 (税抜)	
D187-3	Anti-Dlk (Pref-1) mAb	24-11	Rat IgG1	100 μg	FCM / IH	Mouse	¥52,000	*
D187-4	Anti-Dlk (Pref-1) mAb-FITC	24-11	Rat IgG1	50 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥30,000	*
D187-5	Anti-Dlk (Pref-1) mAb-PE	24-11	Rat IgG1	1 mL (50 tests)	FCM	Mouse	¥40,000	
D053-3	Anti-Mesothelin (Mouse) mAb	295D	Rat IgG2aк	100 μg	FCM	Mouse	¥40,000	
D053-5	Anti-Mesothelin (Mouse) mAb-PE	295D	Rat IgG2aк	1mL (50 tests)	FCM	Mouse	¥40,000	
D233-3	Anti-Mesothelin (Mouse) mAb	B35	Rat IgG2a	100 μg	FCM	Mouse	¥40,000	
D059-3	Anti-OSMR (Oncostatin M Receptor) (Mouse) mAb	30-1	Rat IgG2a	100 μg	FCM	Mouse	¥40,000	
D055-3	Anti-M6a (Mouse) mAb	321	Rat IgG2a	100 μg	FCM / IH	Mouse	¥40,000	
D269-3	Anti-EpCAM (CD326) (Mouse) mAb	2-17-F1	Rat IgG2a	$100~\mu g/100~\mu L$	FCM	Mouse	¥48,000	
D297-3	Anti-p75NTR (Mouse) mAb	25-8	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥48,000	
D296-3	Anti-Lyve-1 (Mouse) mAb	14-4	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	FCM / IH	Mouse	¥38,000	
D225-3	Anti-Lyve-1 (Mouse) mAb	ALY7	Rat IgG1	100 μg/100 μL	FCM / IH	Mouse	¥52,000	
D225-5	Anti-Lyve-1 (Mouse) mAb-PE	ALY7	Rat IgG1	1mL (50 tests)	FCM	Mouse	¥40,000	
D293-3	Anti-CPM (Mouse) mAb	40-1	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥48,000	
D294-3	Anti-CD73 (Mouse) mAb	23-9	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥48,000	
D295-3	Anti-Lu (BCAM/CD239) (Mouse) mAb	10-5	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥48,000	
D072-3	Anti-Podocalyxin (PCLP1) (Mouse) mAb	10B9	Rat IgG1	100 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥48,000	
D072-4	Anti-Podocalyxin (PCLP1) (Mouse) mAb-FITC	10B9	Rat IgG1	1 mL	FCM	Mouse	¥48,000	
D072-6	Anti-Podocalyxin (PCLP1) (Mouse) mAb-Biotin	10B9	Rat IgG1	1 mL	FCM	Mouse	¥48,000	
D317-3	Anti-Stabilin-2 (Mouse) mAb	#34-2	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	WB / FCM / IC / IH / NT	Mouse	¥48,000	×
D317-A48	Anti-Stabilin-2 (Mouse) mAb-Alexa Fluor® 488	#34-2	Rat IgG2a	100 μg/100 μL	FCM	Mouse	¥58,000	
D118-3	Anti-Liv2 (Mouse) mAb	Liv2	Rat IgG1	100 μg	FCM / IH	Mouse	¥48,000	

Anti-His-tag mAb (clone:OGHis) シリーズ

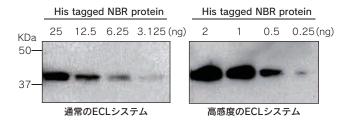


今お使いの His-tag 抗体に満足していないお客様に朗報です

- ◎ N 末端、Internal、C 末端すべての部位の His-tag を認識します。
- ◎高感度、低バックグラウンドです。
- ◎様々なアプリケーション(WB、IP、IC、FCM、ELISA) に使用可能です。
- ◎ Alexa Fluor® (488/594/647)、HRP-DirecT、Biotin 標識もご用意しています。
- N 末端、Internal、C 末端 His-tag への反応性

Internal Sample N未端 KDa 75 50 37 25 Anti-His-tag (clone: OGHis) Anti-His-tag (他社製品)

■ 抗原量に対する反応性の比較



高い反応性

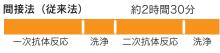
高感度

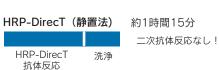


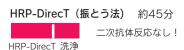
Anti-His-tag mAb-HRP-DirecT (code:D291-7) は、 アッセイ時間を短くできるので、大腸菌での発現チェックに便利です!

Anti-His-tag mAb-HRP-DirecT (code:D291-7) は、HRP を直接標識した抗体で、二次抗体を必要としないため、アッ セイ時間の短縮や二次抗体に由来した非特異反応が抑えられるといった長所があります。

静置法 : 従来法の1/2 振とう法:従来法の1/4(抗体反応30分+洗浄15分)で検出可能!

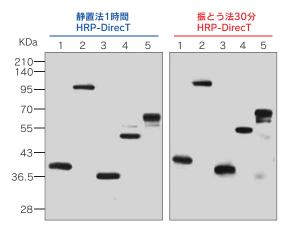






抗体反応

HRP-DirecTを用いれば 抗体の反応時間は 振とう法ならわずか30分!



Lane1: N-terminal Met-His-tagged protein A expressed in E. coli Lane2: Internal His-tagged protein B expressed in 293T Lane3: Internal His-tagged protein C expressed in E. coli Lane4: C-terminal His-tagged protein D expressed in 293T

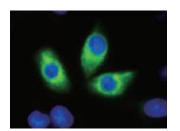
Lane5: C-terminal His-tagged protein E expressed in 293T





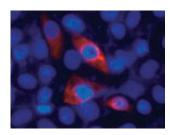
Immunocytochemistry には、Alexa Fluor® 標識 Anti-His-tag mAb がおススメです!特異性が高いため、綺麗かつ迅速に染色できます。

■ Anti-His-tag Alexa Fluor®488, 594, 647 (D291-A48, A59, A64)



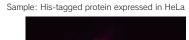
Green: Alexa Fluor® 488

Blue: DAPI

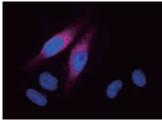


Red: Alexa Fluor® 594

Blue: DAPI



高い S/N 比



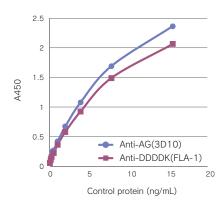
Magenta: Alexa Fluor® 647

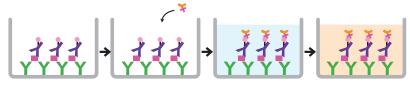
Blue: DAPI





Anti-His-tag mAb-Biotin (code:D291-6) を使えば、 His-tag融合タンパク質を強制発現させた細胞サンプル中の His-tag融合タンパク質の定量も可能です!





- 丫 固相抗体:Anti-Azami Green mAb (3D10)もしくはAnti-DDDDK-tag mAb (FLA-1)
- 🌶 検出用抗体:Anti-His-tag mAb-Biotin(Code No.D291-6)
- サンプル: Epitope tag positive control protein (His-DDDDK-V5-HA-Myc-mAG1)
- ¥ SA-HRP

Code no.	製品名	クローン	アイソタイプ	使用法	内容量	価格(税別)
D291-3	Anti-His-tag mAb	OGHis	Mouse IgG2a _κ	WB/IP/FCM/IC	200 μg/200 μL	¥48,000
D291-3S	Anti-His-tag mAb	OGHis	Mouse IgG2aκ	WB/IP/FCM/IC	50 μg/50 μL	¥18,000
D291-6	Anti-His-tag mAb-Biotin	OGHis	Mouse IgG2aκ	ELISA	50 μg/50 μL	¥18,000
D291-7	Anti-His-tag mAb-HRP-DirecT	OGHis	Mouse IgG2aκ	WB	50 μL	¥22,000
D291-8	Anti-His-tag mAb-Agarose	OGHis	Mouse IgG2aκ	IP	Gel: 200 μL	¥30,000
D291-9	Anti-His-tag mAb-Magnetic beads	OGHis	Mouse IgG2a _κ	IP	20 tests (Slurry: 1 mL)	¥48,000
D291-10	Anti-His-tag mAb-Magnetic Agarose	OGHis	Mouse IgG2aκ	IP	20 tests (Gel: 200 μL)	¥48,000
D291-A48	Anti-His-tag mAb-Alexa Fluor® 488	OGHis	Mouse IgG2aκ	FCM/IC	50 μL	¥22,000
D291-A59	Anti-His-tag mAb-Alexa Fluor® 594	OGHis	Mouse IgG2aκ	IC	50 μg/50 μL	¥22,000
D291-A64	Anti-His-tag mAb-Alexa Fluor® 647	OGHis	Mouse IgG2ак	FCM/IC	50 μg/50 μL	¥22,000

Alexa Fluor®は、LIFE TECHNOLOGIES 社の登録商標です。MBL では Alexa Fluor® 標識抗体を、LIFE TECHNOLOGIES 社より特許ライセンスを受けて製造・販売しております。 WB: Western Blotting IH: Immunohistochemistry IC: Immunocytochemistry IP: Immunoprecipitation FCM: Flow Cytometry

MBL 抗タグ抗体 新製品のご案内

Code no.	製品名	アイソタイプ	使用法	内容量	価格(税別)
BRP0001	Anti-Glu-Glu-tag pAb	Rabbit Ig(aff.)	WB / IP	100 μL	¥48,000
BRP0002	Anti-HSV-tag pAb	Rabbit Ig(aff.)	WB / IP	100 μL	¥48,000

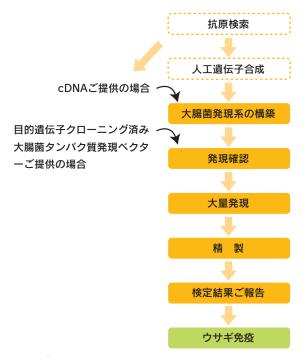
小包装サンプル提供可能♪ 詳細はお問い合わせください。(サンブル提供は予告なく終了する場合があります。)



リコンビナント抗原調製からポリクローナル抗体作製のセットサービスポリクローナル抗体作製エコノミーセット E, F

ご好評のポリクローナル抗体作製エコノミーセットに <u>リコンビナント抗原調製から</u>のサービスをラインナップしました。

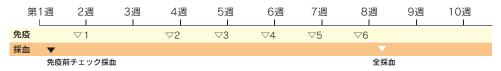
■ 作業概要(抗原調製部分)



※TagはHisとGSTのみお受けします。
※不溶性画分の精製はUreaで変性後精製します。ただしGST-tag付きタンパク質で多くが不溶性画分に発現している場合は精製不可として作業を中止します。ご了承ください。

■ 免疫スケジュール

1) エコノミーセットE (抗原調製→ウサギ6回免疫→全採血)



2) エコノミーセットF (抗原調製→ウサギ6回免疫→チェック採血品評価→追加免疫最大2回→全採血)



■ 価格と納期

基本作業

Z-7-11 X			
項目	数量	価格(税抜)	納期 *2
人工遺伝子合成 *1 からウサギ 2 羽免疫	セットE	¥500,000	5ヶ月~
人工退仏于古成 かりソリヤ 2 初光授	セットF	¥545,000	5.5ヶ月~
※旧文構筑(cDNA thu) から ウサキ ひ 辺を症	セットE	¥450,000	4.5 ヶ月~
発現系構築(cDNA 持込)からウサギ 2 羽免疫	セットF	¥495,000	5ヶ月~
※国ベクカー共活 からウサギ 2 羽各病	セットE	¥350,000	3.5ヶ月~
発現ベクター持込からウサギ 2 羽免疫	セットF	¥395,000	4ヶ月~

^{*1:} 人工遺伝子合成は 1,000 bp までの価格となります。1,001 \sim 1,500 bp は 70 円 /bp が加算されます

^{*2:} 納期は作業状況により変動します。また納期には抗原検索の日数及び抗原、チェック採血品、法品物の輸送日数は含みません。 ご提供いただく cDNA、発現ベクターは 1 ヶ月に 1 回まとめて輸送しますので、お送りいただくタイミングによっては作業開始までに 最大 1 か月程要します。

追加作業

項目	数量	価格 (税抜)	納期
免疫羽数追加	1 羽追加	¥75,000*3	_
IaC 公画化	≤ 40mL	¥60,000	3 週間~
IgG 分画化	50 mL ~ 80mL	¥100,000	3 週间~
	抗血清 10mL	¥ 150,000*3	
Affinity 精製	2 羽目 10mL	¥70,000	3 週間~
	追加 10mL につき	¥35,000	



*3: リコンビナント抗原調製スケールアップ料を含む

■ 最終納品物

○ 全採血品(血清)

- 人工遺伝子(合成からご依頼の場合)
- IgG 分画品(IgG 分画化ご依頼の場合)
- Affinity 精製品及びカラム (Affinity 精製ご依頼の場合)
- 注)発現ベクター、未使用リコンビナント抗原は納品致しません。ご了承ください。

■ 作業中止の場合のご請求金額について

- スモールスケールにて発現確認ができない、あるいは発現量が 1 mg/L 以下の場合: 50,000 円
- 大量培養に進んで、精製ができない、収量が極端に少ない(0.5 mg/L 以下)場合:130,000円

製品保証について

<抗原調製>

- リコンビナントタンパク質の精製作業では、抗原の生理活性は保証しておりません。
- リコンビナントタンパク質の精製作業における当社の品質保証は、SDS-PAGE データと Western Blotting で予想される位置にバンドが検出されることを 基準としています。
- リコンビナントタンパク質の精製作業は、完全長のリコンビナントタンパク質を保証するものではありません。タンパク質の特性上、部分分解産物が発生することもありますのでご了承下さい。
- 免疫開始前に SDS-PAGE と Western Blotting のデータを報告し、了解後に免疫を開始致します。
- 上記以外の予測不能の事態が起きた場合、ご相談させていただきます。

<免疫作業>

- 当社における品質保証は、ELISA による抗体価測定を基準としております。
- 当社の定める免疫スケジュールに則り免疫作業を実施し、免疫後チェック採血品並びに全採血品において抗体価が低い場合(希釈倍率1/2500におけるELISAのOD値と免疫前血清のOD値の差が0.2以下)は、セット価格の70%のご負担をお願いいたします。尚、複数のウサギに免疫し、1羽でも上記の抗体価基準を満たしている場合は保証の対象外とさせていただきます。
- •動物の体調管理には充分配慮しておりますが、稀に免疫によるストレス等により死亡する可能性があります。この場合、無償にて1度のみ再免疫を実施します(1羽死亡の場合1羽再免疫)。抗原が不足する場合は追加送付をお願いします。尚、再免疫でウサギが死亡した場合は作業を中止します。この場合、抗体価が上がらなかった場合の保証に準じます。
- 高い抗体価が ELISA により確認されているにも関わらず、組織染色、細胞染色、Western Blotting や免疫沈降等を用いた実サンプルと反応しない場合、抗 体の性質による予測不能の事態であり、免責事項とさせていただきます。

■ 注意事項

- セットサービスの作業内容の変更はお受けできません。ご要望の場合はスタンダードサービスをご利用ください。
- 当サービスの作業は、当社からの技術指導により海外の当社関連会社で行います。
- セットFのチェック採血品の評価期間はチェック採血品お届け後1週間以内とさせていただきます。ご連絡が無い場合は最大2回追加免疫を実施し、免疫 作業を終了します。
- 輸送事情により、予定したスケジュールに遅れが生じる場合がございます。あらかじめご了承ください。

ポリクローナル抗体作製エコノミーセットシリーズ

抗原作業	~	ペプチド合成~		抗原提供~			ごナント抗原調	1
免疫作業						人工遺伝子合成	cDNA 提供	発現ベクター提供
2 羽 6 回免疫	A	¥200,000	С	¥100,000	E	¥500,000	¥450,000	¥350,000
2羽6回免疫 + チェック 採血品評価工程付き	В	¥245,000	D	¥145,000	F	¥545,000	¥495,000	¥395,000
リン酸化抗体作製セット		¥530,000						



IDT 社 カスタム DNA 合成サービス

DNA合成 脱塩グレード

合成スケール	合成可能塩基数	保証収量	価格 1塩基あたり、税別 チューブ プレート	
25 nmole	15~ 60	3 ODs	¥27	¥18
100 nmole	10~ 90	6 ODs	¥54	¥40
250 nmole	5~ 100	15 ODs	¥100	¥80
1 μmole	5~ 100	45 ODs	¥180	¥160

- ・受注後、弊社配送センターから出荷されるまでチューブ納品の場合は通常4~5営業日、 プレート納品の場合は通常5~7営業日かかります。
- ・納品形態は乾燥品です。液体で納品(ドライアイス発送)の場合、加算料金が必要です。お問合せください。
- ・大量本数発注、大量合成スケールをご希望の場合は、別途お見積いたします。お問合せください。
- ・プレート納品の場合、96穴プレートは24本以上1本単位、384穴プレートは96本以上1本単位の受注となります。

お客様のご要望に多彩なオプションでお応えします

プレート納品の多彩なオプション

■希望のタイプのプレートを選択

◎ 96穴 V-Bottomプレート (ウェル容量=450 µL)◎ 96穴 Deep Wellプレート (ウェル容量=1.2 mL)

◎ 96穴 PCRプレート (サーマルサイクラーに使用可能)

◎ 384穴プレート (ウェル容量=120 μL)◎ 384穴 Deep Wellプレート (ウェル容量=240 μL)

◎ 96穴 Matrixプレート (ウェル容量=1.4 mL)

・サーモフィッシャー社製TrakMates Tube Systemです。

・バーコード管理ができるチューブ独立プレートです。

·Matrixプレートを選択する場合、加算料金¥9,600が必要です。

■使いやすい分注形態

- ◎ 等モル/well (=Normalization)を無償で選択可能です。
 - ·各wellに、等モル量分注し、納品します。
 - ・25 nmole合成スケールの場合、15~60 basesの長さで10 nmole/well で納品可能です(通常の保証収量、合成可能塩基長にかかわらず)。
- ◎ 2種類/well (=Primer mix)を無償で選択可能です。
 - ・各wellに、2種類のDNAを等モル量ミックスして分注し、納品します。 ・PCRプライマー用途などに最適です。

好評な精製・修飾サービス

- PAGE精製、HPLC精製(100 nmole合成スケールの場合)・1本あたり¥6,400、保証収量10D、通常5~10営業日で出荷
- ◎ お得な修飾 (25 nmole、100 nmole合成スケールの場合)

<チューブ納品>

- ·5' phos修飾 ¥3,200
- ·5' Biotin修飾 ¥6,400
- ·5' Amino Modifier C6修飾 ¥3,800

<プレート納品>

- ·5' phos修飾 ¥1,600
- ·5' Biotin修飾 ¥3,200
- ·5' Amino Modifier C6修飾 ¥1.920

より長いDNAを確実に合成 ULTRAmerカスタムDNA合成サービス

- ◎ 60~200 basesまでの合成を、通常サービスとして 対応します。
- ◎ 脱塩グレードで、保証収量4 nmoleで ¥120/base、 保証収量 20 nmoleで ¥240/base

送料·手数料

¥3,000以上のご注文:送料・手数料無料 ¥3,000未満のご注文:¥3,000との差額*

* 最低発注価格 ¥3,000

例 (30 basesのDNA、25 nmole合成スケール、修飾なし、脱塩グレード、チューブ納品の場合)

6本発注 ⇒ 合成価格 ¥4,860(¥27/base×30 bases×6本) + 送料及び手数料 ¥0= ¥4,860 4本発注 ⇒ 合成価格 ¥3,240(¥27/base×30 bases×4本) + 送料及び手数料 ¥0= ¥3,240 2本発注 ⇒ 合成価格 ¥1,620(¥27/base×30 bases×2本) + 送料及び手数料¥1,380= ¥3,000

希望納入価格は2013年5月現在のものです。

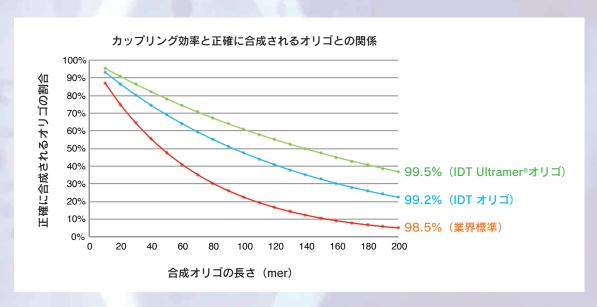
意外と知られていない? オリゴヌクレオチド合成とその伸長効率の関係

ご存じの方も多いかと思いますが、オリゴヌクレオチド(以下、オリゴ)の化学合成では、3'未端から5'未端へと伸長させます。その伸長反応の際に行う脱水縮合反応をカップリングと言いますが、このカップリングの効率が、オリゴの品質に大きな影響を与えています。

カップリング効率は、オリゴを合成しているサプライヤーの業界標準で、約98.5% になります (IDT 調べ)。かなり高い効率との印象を持たれると思います。しかし米国 Integrated DNA Technologies 社 (IDT) ではこのカップリング効率が99.2% に、Ultramer® という特別な方法で長い一本鎖オリゴを合成する際には99.5% にもなります。

98.5%、99.2%、99.5%、比べると非常に小さな差ですが、この小さな差が積み重なり、長くなったオリゴの場合にはどうなるか。カップリング効率と正確に合成されるオリゴとの関係を図示してみました(下図)。

例えば、IDTのUltramer®による合成の場合には、70merでは、正確に合成されるオリゴを約70%得ることが可能です。 しかしながら、業界標準の98.5%のカップリング効率では、正確なオリゴは約35%しか得られません。カップリング効率の小さな差が、意外と大きな差になる事を分かっていただけるかと思います。



正確なオリゴヌクレオチド合成の重要性

IDTでは、高いカップリング効率の Ultramer® の合成方法によって、150mer ~ 200mer の長い配列でも、正確なオリゴを十分に得られるようになりました。もし、カップリング効率が業界標準の 98.5% であれば、150mer の場合には、正確に合成されるオリゴを約 10% しか得られません。しかし IDTの Ultramer® では、約50% も得られます。この高いカップリング効率が、他のサプライヤーが容易に到達できない IDT の強みの 1 つです。そのため、IDT のオリゴのカスタム合成サービスでは、長さ・修飾の有無にかかわらず、またどの精製グレードでも、他のサプライヤーよりも品質の高いオリゴを提供できます。通常考えられている以上に、脱塩グレードでも十分に、お客様の求める結果を提供出来る可能性が高いと考えています。

オリゴは、クローニングや変異導入、シーケンスや定量 PCR など様々な実験に用いられています。オリゴの品質は実験結果に影響を与えてしまいます。しかし、オリゴの品質の影響は少ないであろうと考えられているため、実験のトラブルシューティングではオリゴの品質チェックの優先順位は低いことが多いです。よって、オリゴの品質に原因がある場合でも、その原因にたどり着くまでに膨大な時間が掛かってしまうこともあります。ですから、IDTでは、研究者の皆様により安心してオリゴをお使い頂くためにも、現在の99.2%のカップリング効率からさらに、わずかでも効率を上昇させ、提供するオリゴの品質を今後も向上させていきたいと考えています。



遺伝子発現カスケード解析サービス

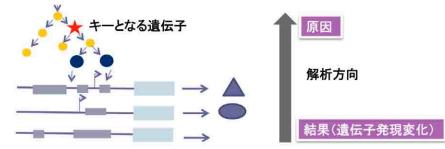
遺伝子カスケード解析サービス 1解析 ¥ 280.000

解析原理の概要

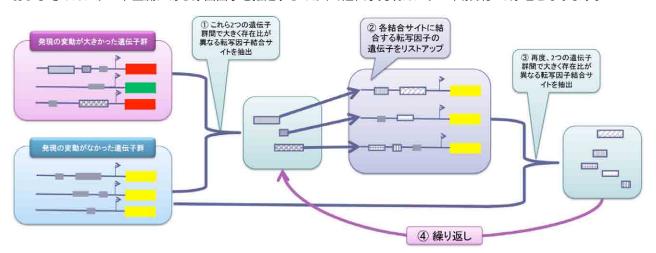
細胞の遺伝子発現変化の多くは、何らかの外界の変化を細胞表層あるいは内在するレセプター等が認識し、シグナル 伝達カスケードを介して、転写因子による転写調節によって引き起こされています。発現アレイはこの転写の変化を mRNA 量の変化として計測しています。

遺伝子発現カスケード解析は、遺伝子発現制御に関わるカスケードを遡って予測し、変化の原因となった因子を推測することを目的として行われます。

本手法の具体的な方法は、まず2つの条件、例えば薬剤あり/なし、といった条件下で発現アレイを用いて転写の変化を計測し、変動が大きかった遺伝子群を特定します。この変動が大きかった遺伝子群に対して、転写因子結合サイトが網羅的に収蔵されたドイ



ツBIOBASE 社のTRANSFAC データベースを使用して、各遺伝子の転写開始点上流の転写因子結合サイトを探索します。さらに、コントロールとして、ほとんど発現変動がなかった遺伝子群にも同様の探索を行い、この 2 つの群の間で、大きな頻度差があった転写因子結合サイトを特定します。TRANSFAC には、これら結合サイトにどのような因子が結合するかという情報もありますので、結合する因子が判明します。また、結合因子がわかれば、その遺伝子も特定できます。このように、結合する転写因子の遺伝子を特定し、これら転写因子遺伝子に対しても、転写開始点上流の転写因子結合サイトの探索を行います。この結果と最初の「発現変動がなかった遺伝子群」の結合サイト頻度を比較することで、頻度が大きく異なるサイトを特定します。このような処理を繰り返すことで、結果的にカスケードの上流を予測していくことができます。以上のような方法で、発現アレイで計測された発現量の変化を説明できるシグナル伝達カスケードおよびそのカスケード上流にある原因因子を推定するのが、「遺伝子発現カスケード解析」の原理となります。



BIOBASE について

1997年北ドイツ・ヴォルフェンビュッテル(Wolfenbuettel)に設立された BIOBASE GmbH は、日本、アメリカ、インドに子会社を有し、バイオ・医療関連のデータベースを提供しています。BIOBASE の製品・サービスは、基礎研究から創薬研究等の応用研究まで幅広くサポートし、世界中の製薬企業や主要な研究機関で利用されています。

遺伝子発現カスケード解析例:キガマイシンによる膵臓がん治療効果作用の解析

遺伝子発現カスケード解析例:キガマイシンによるすい臓がん治療効果作用の解析

解析目的 キガマイシンは国立がん研究センターで研究開発された、膵臓がん治療薬として期待される新規抗腫瘍性 物質です。この物質は膵臓がん特有の環境において抗腫瘍効果を発揮しますが、その作用機序はあまり分かっていません。 本解析はその作用機序の特定を目的としています。

材料と方法 ヒトすい臓がん由来細胞株 PANC-1 をキガマイシンで 2 時間処理した後、RNA を調製し、発現アレ イ (Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array) によって各遺伝子の発現量を計測しました。対照であるキガ マイシン非処理細胞の各遺伝子発現量に対する Fold Change を用いて遺伝子発現カスケード解析を行い、キガマイシ ンの作用機序のキーとなる因子とそのカスケードを抽出しました。なお、本発現アレイデータは、国立がん研究センター 東病院の江角浩安先生との共同研究で得られたものです。

結果 キガマイシンによって引き起こされる現象の原因因子とその因子が支配するカスケードが推測され、合計 11 個のカスケードが得られました(表1)。その1つ、Akt-1 に関してはキガマイシンの作用因子であることが既に報告さ れています $^{\, 1}$ 。図 $^{\, 1}$ は本解析で構築された $^{\, 1}$ Akt カスケードであり、キガマイシン処理をした $^{\, 1}$ PANC- $^{\, 1}$ 細胞で実際に起こっ ている現象を推測したものになります。更に、我々の解析では、Akt カスケード中の CDX1、NKX2-1 および TAF7 も 注目するべき因子と結論付けされています(表2)。その他の興味深い原因因子として PTEN が挙げられ、これはオー トファジーに関連する因子です。最近、キガマイシンの効果とオートファジーの関係についての報告が国立がん研究セ ンターから発表されています。

表1. 遺伝子発現カスケード解析により 推測されたカスケードの最上流因子

原因因子								
ABL1	ILK	PIP3	SGK-1-isoform1					
AKT1	IRF-1	PTEN	SIRT1					
Grap	pdpk2	RIN1						

キガマイシンによって変動するカスケードのキーとなる因子 を示します。各最上流因子の下にはそれぞれカスケードが予 測されています(図1参照)。

表 2. 遺伝子発現カスケード解析により推測された重要因子

因子	重要度	因子	重要度	因子	重要度					
CDX1	11	CEBPA	8	MKK6-isoform1	6					
NKX2-1	11	IPF1	8	р38β2	6					
TAF7	11	NR3C1	8	Sp1	6					
NKX2-5	10	FOXF1	7	STAT6-xbb1	6					
Bhlhb3	9	β-catenin	6	ABL-1a	5					
BHLHE40	9	CKII-α	6	CBP	5					
HIF-1α-isoform1	9	GATA2	6	DNA-PKcs-isoform1	5					
HIF-1α-isoform2	9	GATA6	6	GSK3β	5					
p300	9	HMGA1	6	Jak2	5					
AKT-1	8	Huntingtin	6	LynA	5					

重要度が大きいものほど現象に関わっている可能性が高いことを示します。

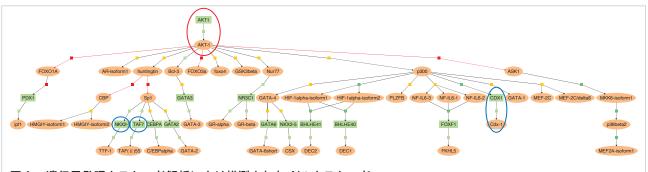


図1. 遺伝子発現カスケード解析により推測された Akt カスケード 赤丸が原因因子(Akt)、青丸が我々の解析で重要であると予測された因子を示します。

考察 Akt は細胞の生存に作用する因子であり、実験的にも本遺伝子発現カスケード解析としてもキガマイシンとの 関連性が示唆されました。つまり、キガマイシンは Akt カスケード、特に本解析から CDX1、NKX2-1 および TAF7 に 作用することで抗腫瘍効果を発揮すると推測されました。また、オートファジーは第3の細胞死とも呼ばれる一方で、 細胞に栄養を与え生命活動を維持するという相反する作用も併せ持ちます。従って、キガマイシンはオートファジーの どちらかの効果に作用することで抗腫瘍効果を持つと推測されました。Akt もオートファジーを調節する重要な因子で

あることから、キガマイシンの抗腫瘍効果にオートファジーが関わることが強く推測されます。 また、原因因子 SIRT1 は AMPK と相互作用する酵素ですが、AMPK は膵臓がん微小環境様にある膵臓がん細胞の生存 に深く関与している酵素であることが知られています。また、Akt カスケード中の HIF1α も同様に膵臓がん細胞の生存 にとって重要なことが知られています。従って、今回の遺伝子発現カスケード解析は、キガマイシンがこれら因子の作

今後はこれらの原因因子を含め、更なる実験的な検討を考えています。

用を抑制することで抗腫瘍性を持つことも示唆しています。

遺伝子解析受託サービス



アジレント DNAマイクロアレイ

受託解析キャンペーン



キャンペーン期間

2013年6月3日~2013年8月23日 到着サンプル分まで

RNAサンプルを送るだけ

オプションにてRNA抽出、データ解析のご依頼も可能です。

● 2サンプルからお受け致します*。

*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対応となります。 詳細はこちら ▶▶▶ http://ruo.mbl.co.jp/news/sharing.html

- 8の倍数 (1アレイ単位) でご依頼の場合、1 解析 ¥89,000 にてお受け致します。
- 多検体でご依頼の場合はお見積もり致します。

全ゲノム発現解析アレイ(Hu、Mo、Rat)

解析法	フォーマット	解析数/1アレイ	介 動物種		キャンペーン価格/1解析
1色法	8x60K V2	8解析	Hu	2 サンプル から	Y05 000
1色法	8x60K	8解析	Hu,Mo,Rat	(チップシェアリング対応)	±95,000

[・]上記料金内にデータ解析「変動遺伝子抽出リスト」を含みます。 ・その他動物種、アレイの種類につきましてはお問い合わせ下さい。

RNA抽出・データ解析

*オプションとなります。詳細はお問い合わせください。

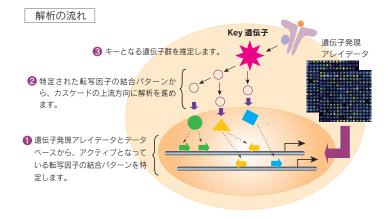
- 細胞・組織からのRNA抽出
- データ解析: Go-term、クラスタリング、パスウェイ解析、有意差検定、統合解析、遺伝子カスケード解析等

遺伝子カスケード解析

- 遺伝子発現変化の原因や、メカニズム解明の 糸口をつかみたい方にお勧めです。
- BIOBASE 社の TRANSFAC Professional (転写因子結合サイトデータベース)を用いて、遺伝子群の転写開始点付近にある転写因子結合サイトを分析し、どのような転写因子が発現変化の原因になったかを推定します。
- パスウェイ解析や、Gene Ontology 解析とは 原理がまったく異なる解析法ですので、これ らの解析では得られない知見を提供すること が可能です。

「遺伝子カスケード解析」とは、ドイツBIOBASE 社が開発した、マイクロアレイ遺伝子発現データの新しい解析手法です。





ヒトメチル化解析受託サービス





イルミナ HumanMethylation450

受託解析キャンペーン



キャンペーン期間

2013年6月3日~2013年8月23日 到着サンプル分まで

DNAサンプルを送るだけ

オプションにて、サンプル調製(DNA 抽出、濃縮)、データ解析のご依頼も可能です。



- 2サンプルからお受け致します。
- 12の倍数 (1アレイ単位) でご依頼の場合、1 サンプル ¥85,000 にてお受け致します。
- 多検体でご依頼の場合はお見積り致します。
- イルミナCsPro取得機関で測定致します。

HumanMethylation450

1サンプル ¥88,000

通常12サンプルのところ 2サンプル からお受けいたします。 (チップシェアリング対応)

● 網羅的な測定が可能、480.000 以上のメチル化サイトをターゲットとして搭載

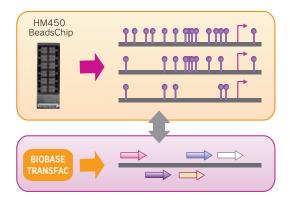
HumanMethylation450 データ解析サービス

*オプションとなります。詳細はお問い合わせください。

○ データ解析の専門家がお電話(無料)で相談に応じます。

解析例 メチル化 ▶ 差分解析 ▶ 有意差検定 ▶ データベース 検索 (BioBase)

○ 解析例: CpGサイト上に結合する転写因子を予測するCpG-TRANSFAC統合解析



遺伝子名	SampleA β値	SampleB β値	差分值	転写因子結合サイト	サイト位置	結合サイト配列	結合因子
GNAS	0.3710409	0.10532299	-0.26571791	V\$CMYB_01	53 (+)	cgaggagtcgGTTGGgtt	c-Myb
GNAS	0.3710409	0.10532299	-0.26571791	V\$RREB1_01	61 (-)	cggttgggTTGGGg	RREB-1
GNAS	0.3710409	0.10532299	-0.26571791	V\$ZIC1_04	48 (-)	tCCCCCgaggagtc	Zic1
GNAS	0.3710409	0.10532299	-0.26571791	V\$ZFP691_04	50 (-)	ccccgagGAGTCggttg	Zfp691
ABCC9	0.9212148	0.6455877	-0.2756271	V\$ETS1_B	62 (+)	gcAGGATgtctttta	c-Ets-1
RBMX	0.7034451	0.8686774	0.1652323	V\$VMYB_01	56 (+)	agtAACGGaa	v-Myb
RBMX	0.7034451	0.8686774	0.1652323	V\$VMYB_02	56 (+)	agtAACGGa	v-Myb

CpG サイト上に結合する可能性のある タンパク質因子名でソートすることが可能

糖鎖解析受託サービス 一次解析キャンペーン



アスパラギン結合型 (N型) 糖鎖 のプロファイリングと構造決定

期間: 2013年8月30日 ご依頼分まで

約600種を超える標準糖鎖、データベースGALAXYとグライエンス社独自の技術 により、詳細な糖鎖構造の解析を行います。

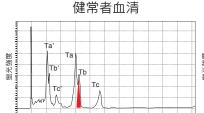
1サンプル解析価格

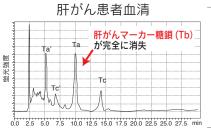
一次解析*:500,000円 → 298,000円

*解析内容:酵素処理、DEAEおよびODSカラム分析、MALDI-TOF MS分析まで

二次解析(Amideカラム分析と糖鎖構造の同定)は35,000円/ピークとなります。

肝細胞癌糖鎖マーカーの発見





例えばがんと健常人サンプルを 比較する場合には、 596,000円/2サンプルとなります。

代表的な肝細胞がん患者の血清糖鎖プロファイリングでは、肝細胞がん マーカー糖鎖 (Tb) が完全に消失している (特許番号第4752032号)

糖鎖含量30 μg以上もしくはタンパク量500 μg以上

業界トップクラスの受託実績

- ◎ 血清、尿、組織、細胞などをそのまま用いた定量的な解析
- ◎ データベースに無い未知糖鎖の構造推定
- ◎ MALDI-TOF MSを用いた解析
- ◎ 稀少糖鎖(硫酸化糖鎖やグルクロン酸含有糖鎖)の解析
- ◎ 分子質量が同じである構造異性体の区別

解析に必要なサンプル量

糖タンパク質

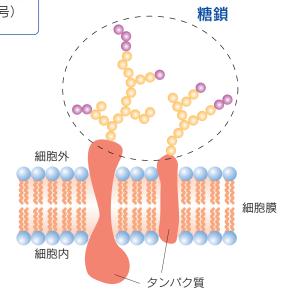
電気泳動後のゲル

(タンパク質の種類によって異なります。) 300 µL 以上 血漿 6 mL 以上*1 尿 1×10⁷ 個 / mL 以上 細胞 1 mg 以上*2 組織

10 μg以上

郵送時のサンプル形態: 凍結もしくは凍結乾燥 *1:尿サンプルは冷蔵郵送

*2:5 mm~10 mm角以上の大きさ



糖鎖解析は幅広い分野の研究に利用できます!

サンプル間の糖鎖変化を大まかに見たい場合には下記のような解析も行えます。

レクチンブロット受託解析

組織・細胞等のサンプル中に様々な糖鎖成分(糖タンパク質、糖脂質等)が含まれている場合

- ◎ 少量サンプルで解析が可能
- ◎ グライエンス社保有の人エレクチンを使用するため、市販の天然レクチンと異なり、 高い再現性を実現

【ご用意頂くもの】

ミニゲルサイズの PVDF 膜 (1 ゲルあたり 10 レーン以下)を 13 枚

- ※ レクチン 1 種に対し、1 枚用意してください。
- ※ 1 メンブレンあたり 10 μg 程度をご用意ください。
- ※ 必ず分子量マーカーを入れて電気泳動を行ってください。

【解析に必要なサンプル量の目安】

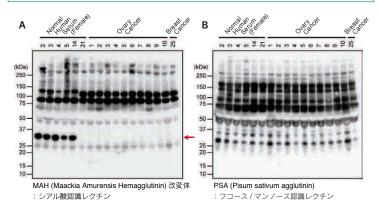
- · 血清: 0.2 μL/ レーン
- ・組織、細胞: 0.5 μg/レーン
- ·精製タンパク質: 0.1 μg/ レーン
- ※ 1 レーンにサンプルバッファー溶解液 10 μLで 泳動を行う場合を例にすると、血清の場合、

0.2 µL をサンプルバッファー 9.8 µL 中で懸濁します。

【価格】500,000円/1解析(13レクチン)

【納期】約2週間

解析結果例 <各サンプルを用いたレクチンブロット解析>



5~15% Gradient Gel を使用 serum: 0.2 mL/lane をアプライ MAH改変体により健常人サンプルは反応するが、 各癌サンプルで反応しないバンドを検出(矢印部分)

MALDI-TOF MS による受託解析

サンプル中に含まれる〇型糖鎖等の解析を行いたい場合

【価格】100,000円/サンプル

【解析に必要なサンプル量】1次解析と同程度のサンプル量をご用意ください。

【納期】約2週間

ご自身で糖鎖研究を行われている方

HPLC 用の糖鎖標準品やレクチンも販売しております。

【注意事項】

- ・価格は税別価格です。
- ・組織や細胞からの解析を希望される場合には前処理等別途追加料金が発生します。
- ・各解析の納期は目安です。サンプルの種類や数量によって変わりますので、予めご了承ください。

ご注文方法

MBL 総合受託サービスウェブサイト (http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/) の「お問合せ」からご連絡ください。

詳しくは MBL ライフサイエンスサイトをご覧ください

MBL 糖鎖

検索

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、右記webページをご覧ください。→ http://ruo.mbl.co.jp/news/sharing.html <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、miRNA発現解析) 測定先:株式会社 Oncomics
- ◎イルミナ社 (DNAメチル化解析) 測定先: G&Gサイエンス株式会社

III アウトレットセール好評開催中!



、MBL研究用試薬TOPからバナーをクリック!

製品有効期限が短くなった製品など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。

職 第25回高遠シンポジウム in 比叡山 開催のおしらせ

2013年8月29日(木)-30日(金) 場所: 延暦寺会館(滋賀県大津市)

- <演題> 8月29日(木) ·樹木肥大のしくみー植物幹細胞維持のシグナル伝達/福田裕穂(東京大学)
 - ・皮膚構造の設計原理を探る: 毛包幹細胞―ニッチ間クロストークの関与/藤原裕展(理化学研究所)
 - ・メゾスコピックな視点から眺める脳回路/池谷裕二(東京大学)
 - ・生殖細胞系列の体外培養における再構築/林 克彦(京都大学)
 - ・哺乳類生殖細胞のエピゲノム制御と小分子RNA/佐々木裕之(九州大学)

- 8月30日(金) · ATP合成酵素の1分子生物物理学とその応用/野地博行(東京大学)
 - ・立体培養による複雑組織の自己組織化/笹井芳樹(理化学研究所)
 - ・均質な細胞間に「非対称性」を持たせるしくみの再構成/戎家美紀(理化学研究所 / JSTさきがけ)
 - ・発がんの本質的なゲノム異常/間野博行(東京大学)



学会情報

- 第7回 日本エピジェネティクス研究会年会(2013年5月30−31日、奈良県新公会堂): 出展
- 第6回 国際京都T細胞カンファレンス (2013年6月3-7日、京都大学 芝蘭会館): 出展
- 光学イメージングによる生体機能解明への挑戦 (2013年6月4日、UDX-GALLERY NEXT 1, 2): セミナー&出展
- 第102回 日本病理学会総会(2013年6月6-8日、ロイトン札幌/さっぽろ芸文館): 出展
- 第65回 日本細胞生物学会大会(2013年6月19-21日、ウインクあいち): セミナー&出展
- 第45回 日本動脈硬化学会総会・学術集会 (2013年7月18-19日、京王プラザホテル): 出展

*その他学会にも出展いたします。詳細はWebページをご覧ください。http://ruo.mbl.co.jp/list/exhibit/

Copyright © 2013 MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD. All Rights Reserved.

2013.05 151088-19101000

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.ip