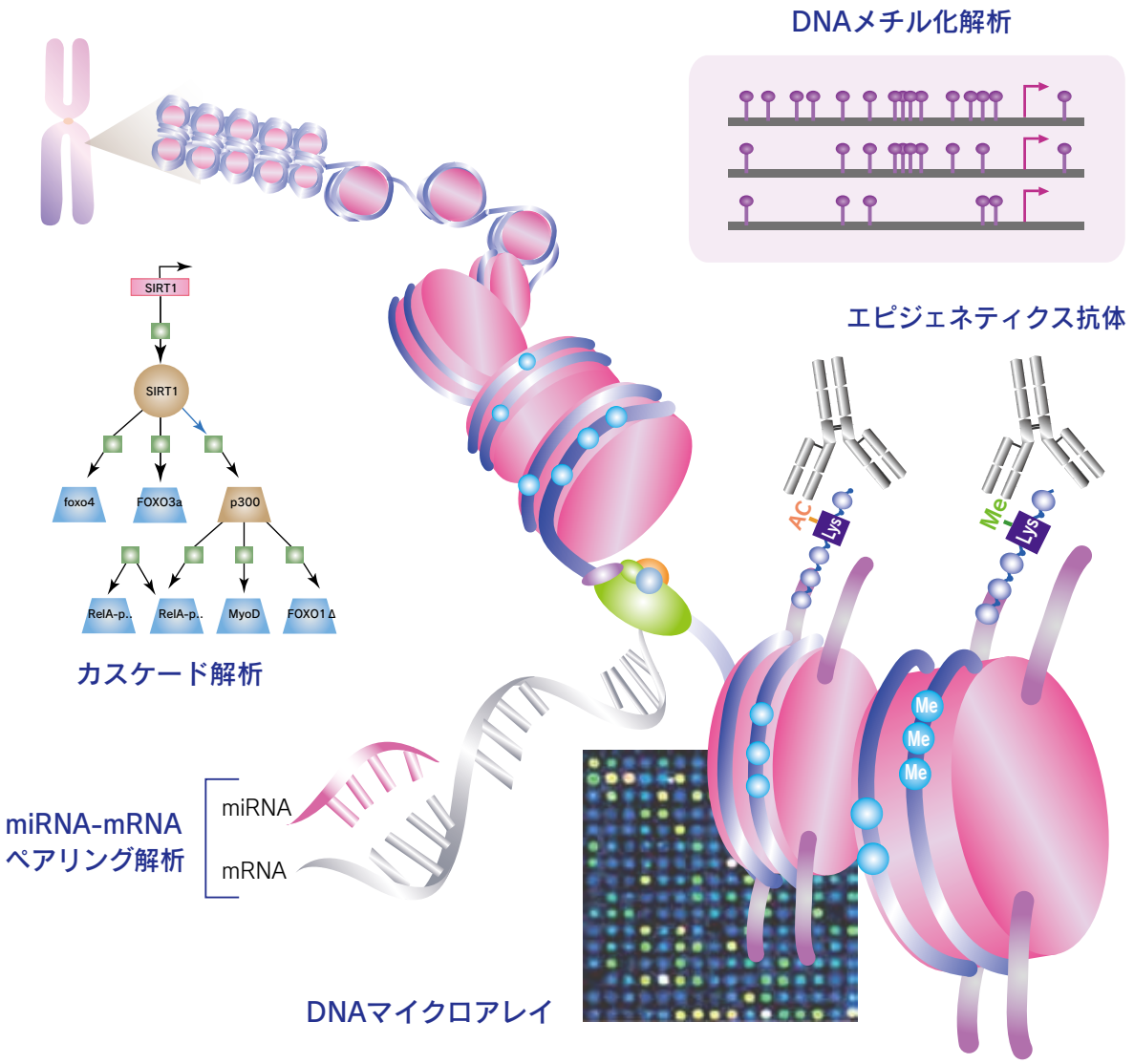
MBL RUO TOPICS

MBL
研究用試薬

vol. 7
Nov. 2012



特集 マイクロアレイとその応用

<Topics>

◎ RiboCluster Profiler™ miRNA-mRNA ペアリング解析
◎ 質量分析受託サービス
◎ CircuLex™ Human TXNIP ELISA Kit
◎ Equitech-Bio 社製品
◎ MBL エピジェネティクス関連おすすめ抗体
◎ 定量 PCR によるマイクロアレイ発現解析のバリデーション
◎ ポリクローナル抗体作製 / ペプチド合成　特価キャンペーン
◎ 抗マルチセリン / スレオニンプロテインキナーゼ抗体
◎ モノクローナル抗体研究所 特集
◎ アセチル化 / 脱アセチル化酵素関連試薬

株式会社 医学生物学研究所
http://ruo.mbl.co.jp/

* RUO は Research Use Only の略語となります。

特集：マイクロアレイとその応用

DNA マイクロアレイ受託解析サービス

◎ MBL は、ネットワーク企業、業務提携企業とともに皆様の研究のお手伝いを致します。

イルミナ社　マイクロアレイ　受託サービス		
受託項目	解析対象マイクロアレイ	データ解析受託サービス
SNP/ CNV 解析	○ HumanOmni5-Quad ○ HumanOmni2.5-8 ○ HumanOmniExpress-12 ○ HumanCytoSNP-12 ○ HumanExome ○ HumanOmni5Exome ○ HumanOmni2.5-8Exome ○ HumanOmniExpressExome	◎ アレイチップ共通の SNP の検出 ◎ 品質管理（QC） ＊ call ratel による解析対象 SNP の抽出及びサンプルの選別 ＊ハーディー・ワインバーグ平衡　＊マイナーアレル頻度 ◎ 図表作成 ＊ QC プロット、マンハッタンプロット ＊表現型分布図、生存時間曲線 ◎ 候補遺伝子の解析 ◎ 連鎖解析等家系データの解析 ◎ 信頼性基準の下での治験 PGx 解析 ◎ 日本 PGx データサイエンスコンソーシアム ＊ JPDSC コントロール 3000 名を用いた PGx に関連したゲノムワイド関連研究（HumanOmni2.5-8 のみ対応）
DNA メチル化 解析	○ HumanMethylation450	◎ 差分解析 ◎ 有意差検定　◎ クラスタリング処理 ◎ GO 解析 (公共データベース、BKL 使用) ◎ 主成分分析　◎ BioBase TRANSPATH パスウェイ解析 ◎ BioBaseKnowledge Library 遺伝子情報 ◎ TRANSFAC 転写因子結合サイト情報 ◎ 作図サービス（ベン図等） ◎ コンサルティングサービス（結果解釈・仮説導出）
アジレント社　DNA マイクロアレイ　受託サービス		
遺伝子 発現解析	○ SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K v2 ○ SurePrint G3 Human Gene Expression 8x60K ○ Whole Human Genome 4x44K v2 ○ SurePrint G3 Mouse Gene Expression 8x60K ○ Whole Mouse Genome 4x44K v2 ○ SurePrint G3 Rat Gene Expression 8x60K ○ Whole Rat Genome 4x44K v3	◎ 発現変動比算出 ◎ 有意差検定　◎ クラスタリング処理 ◎ GO 解析 (公共データベース、BKL 使用) ◎ 主成分分析　◎ BioBase TRANSPATH パスウェイ解析 ◎ BioBaseKnowledge Library 遺伝子情報 ◎ 作図サービス（ベン図等） ◎ コンサルティングサービス（結果解釈・仮説導出） ◎ 遺伝子カスケード解析（BIOBASE）
miRNA 発現解析	○ Human miRNA マイクロアレイ（8x60K、8x15K） ○ Mouse miRNA マイクロアレイ（8x60K、8x15K） ○ Rat miRNA マイクロアレイ（8x15K）	◎ 基本作業　◎ 発現変動比算出 ◎ 有意差検定　◎ 作図サービス（ベン図等） ◎ コンサルティングサービス（結果解釈・仮説導出）

イルミナ社、アジレント社　マイクロアレイ　データ解析（統合解析）	
受託項目	データ解析受託サービス
統合解析	◎ 遺伝子発現 - メチル化解析（HM450） ◎ 遺伝子発現 -miRNA（TargetScan 利用） ◎ 遺伝子発現 -miRNA（BKL 利用） ◎ メチル化解析 -miRNA

■ お問い合わせからサンプル送付までの流れ

◎ ご質問・ご要望
◎ お見積もり依頼
▶
◎ ご質問の回答
◎ 見積書ご提示
◎ 依頼書送信
▶
◎ 依頼書ご返信
▶
◎ 試料 (サンプル) のご送付

新たなデータ解析手法を試すことで、違った切り口でデータを見つめることもできます。

イルミナ社 SNP/CNV 解析受託サービス

G&G サイエンス㈱はイルミナ社認定受託サービス機関 CSPro（CertifiedServiceProvider）の認定を受けており、高品質データと高い信頼性をお約束致します。
本解析に用いるイルミナ社の Infinium アッセイは、国際ハップマッププロジェクトの成果を応用した TagSNP の技術を使い開発されました。生活習慣病等多因子疾患の感受性遺伝子探索を目的とした GWAS で、世界中の研究者が広く採用し、着々と成果を上げています。

◎　全ゲノムを対象とした SNP ジェノタイピング製品では CNV 解析、LOH 解析も可能です。
◎　TagSNP を採用しているので均一な間隔で SNP が測定でき、高いゲノムカバー率を実現。

HumanOmni2.5-8	1000 人ゲノムプロジェクトのパイロットデータから得られた最適化された tag SNP を活用しています。約 250 万のマイナーアレル頻度 2.5% 以上のコモンおよび希少 SNP を搭載しています。平均マーカー間距離 1.19kb

G&G サイエンス社では今までに千検体以上の SNP ジェノタイピングを実施しており、安心してご利用頂けます。日本人でコストパフォーマンスとカバー率を検討すると、Human Omni2.5-8 が最適です。次に紹介するサービスも HumanOmni2.5-8 でデータを取得しております。

○ サービスの詳細は、http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/snp.html をご覧下さい。

JPDSC コントロールデータを用いたケース・コントロール研究のご紹介

株式会社スタージェンでは、日本 PGx データサイエンスコンソーシアム（以下、JPDSC）が構築した日本人の標準的 DNA データベース（以下、「JPDSC コントロール DB」）を、クライアント様から受託する統計解析業務に、一定条件の下で、使用できる事となりました。
JPDSC コントロール DB は、日本人健常人の標準的 DNA3,002 人分を illumina HumanOmni2.5-8 でタイピングしたコントロールデータベースです。このサービスを御利用頂く事により、より精度の高い御研究を、コントロール DB の収集の手間をかけずに安価に実施する事ができます。

○ Japan PGx Data Science Consortium (JPDSC) について
JPDSC は遺伝子解析を通じて、日本人副作用の原因を解明し、安全性、有効性の高い薬開発を目的とした日本人のコントロール DNA データベースの構築を目標に 2009 年 9 月、下記国内製薬会社 6 社をチャーターメンバーとして発足しました。

JPDSC コントロールを用いた、PGx に関連したゲノムワイド関連研究を企画し、学術論文として発表して頂けませんでしょうか。イルミナ社 HumanOmni2.5-8 を使用したデータをご用意ください。
<< 費用 >>
・JPDSC データベース使用料（200 万円～）
・スタージェン社統計解析費用（お見積り）
・イルミナ社 HumanOmni2.5-8 ジェノタイピング費用（サンプル数に応じてお見積り）

このサービスを利用することで、先生方はケース群のサンプル収集に注力して頂くことが可能です。3002 名のコントロールデータが数百万円で利用できることはとても価値があることだと考えております。既にお手元にあるジェノタイピングからのご依頼も可能です。ケース群のジェノタイピングが必要でしたら、弊社でお受けいたします。

○ サービスの詳細は、jutaku @ mbl.co.jp までお問い合わせ下さい。

特集

イルミナ社 DNA メチル化解析受託サービス

G&G サイエンス㈱はイルミナ社認定受託サービス機関 CSPro（CertifiedServiceProvider）の認定を受けており、高品質データと高い信頼性をお約束致します。本解析は、DNA マイクロアレイを用いて SNP ジェノタイピングのデファクトスタンダードとなっているイルミナ社の Infinium アッセイを使用して、1 塩基レベルの解像度で CpG サイトのメチル化を測定することができます。

HumanMethylation450	Refseq 遺伝子、および遺伝子領域以外の領域も含む全ゲノムを包括的にカバーした 48 万以上のメチル化サイトをターゲットとしています。

G&G サイエンス社では、HumanMethylation450 の 2011 年の発売依頼測定を数百検体以上実施しており、安心してご利用頂けます。次に紹介するデータ解析をご利用頂ければ、48 万箇所以上の測定データの絞り込みや解釈のお手伝いが出来ます。

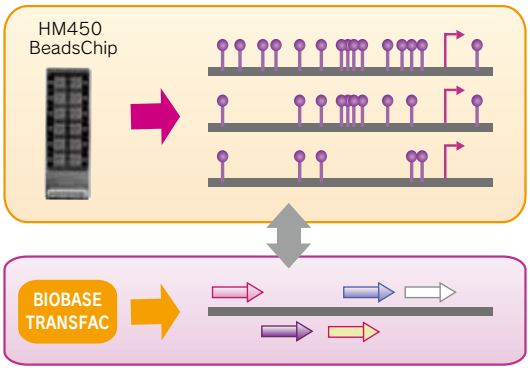
○ **サービスの詳細は、http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/methylated_dna.html をご覧下さい。**

DNA メチル化解析　データ解析受託サービス

データマイニングの専門家とお電話（無料）にてご相談いただき、最適のデータ解析手法を提案致します。

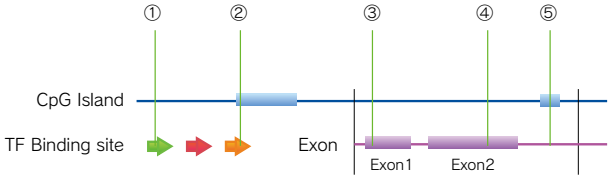
解析の流れ一例　メチル化 ▶ 差分解析 ▶ 有意差検定 ▶ データベース検索（BioBase）

■ TRANSFAC 転写因子結合サイト情報



TRANSFAC の転写因子結合サイト情報と、イルミナ HM450 プローブ位置 (CpG サイト位置) の関係を情報提供します。

■ 作図サービス



	①	②	③	④	⑤
Group1平均	0.05189	0.10291	0.07607	0.07912	0.06122
Group2平均	0.46232	0.71421	0.78013	0.88506	0.31996

HumanMethyaltion450 に搭載された CpG サイトの遺伝子上の位置と、各グループのメチル化状態の違いを作図する事も出来ます。

画期的な HumanMethylation450 でありますが、データの解釈には困ることが多いです。例えば、サンプル数を多くとることで、有意差検定が使えるようになり、精度が高い絞り込みが出来るようになります。解析データの参照にはデータベースの精度が決め手となりますので、弊社では BioBase 社のデータベースの使用をお勧めしております。

○ **サービスの詳細は、http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/gene_datamining.html をご覧下さい。**

アジレント社 mRNA、miRNA 解析受託サービス

◎ mRNA 発現解析： SurePrint G3 Gene Expression 8x60K (Human, Mouse, Rat)
Whole Genome 4x44k (Human, Mouse, Rat)

◎ miRNA 発現解析： SurePrint G3 miRNA 8x60K (Human, Mouse)
miRNA (Human, Mouse, Rat)

高いレベルの研究成果を報告している研究グループでの研究経験がある下記論文の筆者が、皆様をサポート致します。＜参考文献＞ Takeuchi T, *et al.*, J. Clin. Oncol. 24：1679-1688 (2006)
（149 症例の肺癌切除例を約 18,000 遺伝子のマイクロアレイで解析し、臨床的にも分子生物学的にも重要な肺癌の個性の描出を示した論文）

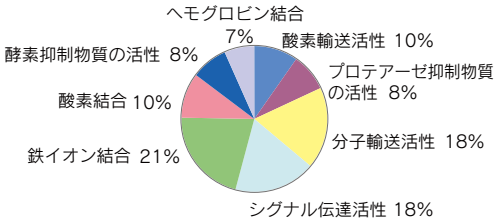
○ サービスの詳細は、http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/gene_genome.html をご覧下さい。

DNA マイクロアレイ　データ解析受託サービス

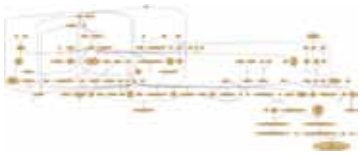
データマイニングの専門家とお電話（無料）にてご相談いただき、最適のデータ解析手法を提案致します。

クラスター解析

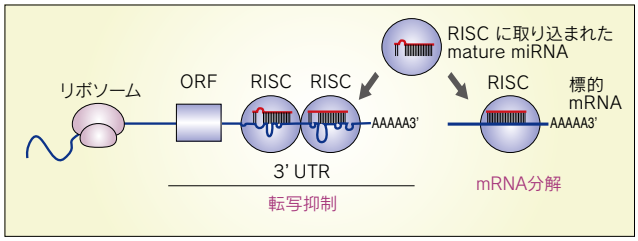
GOterm 解析



パスウェイ解析



■ mRNA&miRNA 統合解析サービス

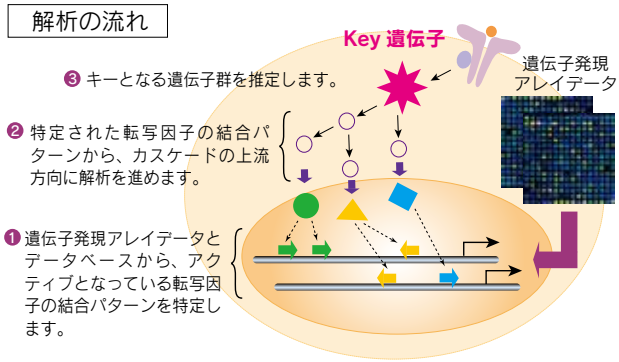


miRNA の機能は、遺伝子発現の転写後抑制です。TargetScan を用いて miRNA のターゲットとなる mRNA をリストアップします。ターゲットとなる mRNA の発現が減少していれば、mRNA の変動は miRNA によるものと考えて、データの絞り込みを行っていくことが出来ます。

■ 遺伝子カスケードサービス：1 解析 280,000 円～

○ 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。
○ 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。

解析の流れ



サンプル数を多くすることで、有意差検定や主成分分析を入れて、false positive の少ないデータへ絞り込みができます。絞り込んだデータをカスケード解析に利用することで、新たな切り口でデータを眺めることが出来ます。是非、これからアレイ測定を考えているお客様も、既に大規模にアレイデータを取得済みのお客様もカスケード解析をお試しください。

○ サービスの詳細は、http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/gene_datamining.html をご覧下さい。

特集

アジレント社 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：～12月28日 受注分まで

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

■ 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	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	**¥95,000**
1色法	8x60K	8解析	Hu,Mo,Rat	（チップシェアリング対応）	

・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。

イルミナ社 HumanMethylation450 受託解析キャンペーン

キャンペーン期間：～12月28日 受注分まで

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。

多検体でご依頼の場合は別途お見積りいたします。

HumanMethylation450　1サンプル　**¥98,000**

HM450
BeadsChip

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）

◎ お客様によるバイサルファイト処理不要
◎ 高い再現性（98%以上）、高い解像度
◎ 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

■ チップシェアリング

現在の DNA マイクロアレイは 1 枚のチップで複数サンプル測定できる仕様になってきております。例えば、2 サンプルの測定では、チップの残り部分が無駄になってしまいます。弊社では、お客様からのご要望に応じて、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。

○ **チップシェアリングの詳細は、http://ruo.mbl.co.jp/news/sharing.html をご覧下さい。**

Topics

RiboCluster Profiler™ ～遺伝子発現の転写後調節の新規解析ツール～

RNA 結合タンパク質（RBP）は、mRNA のスプライシング、核外輸送、細胞質内局在、安定性及び翻訳効率の調節などの転写後遺伝子発現制御において重要な働きをしています。また、特定の疾患や機能に関連した mRNA や miRNA などは、RBP を介してクラスター（RiboCluster）を形成していると考えられています。RiboCluster Profiler™ は、特定の疾患や生物学的に関連した遺伝子群を網羅的に解析するツールです。どの分野で研究している方でもスムーズに RNA 研究分野に入っていただけるように設計されています。

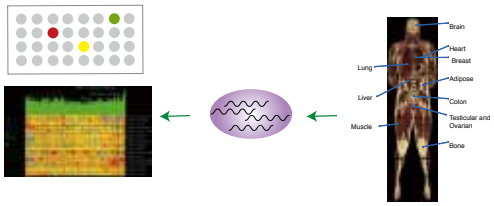
RiboCluster Profiler™

RIP-Chip 技術は Ribonomics, Inc. の特許技術 (USP# 6,635,422、USP# 7,504,210、JP 5,002,105) です。
MBL は Ribonomics, Inc. からワールドワイドな通常実施権を得てキットを開発しています。

Reference: Dale L. Beach and Jack D. Keene, Methods Mol. Biol., 419: 69–91 (2008)

RiboChip

興味ある疾患や組織に
特異的な RBP を見つけたい場合



RiboChip を使って興味ある組織、細胞や疾患で発現している RBP を調べ、組織、細胞あるいは疾患特異的な RBP を見つけた後、Cycle に入ります。

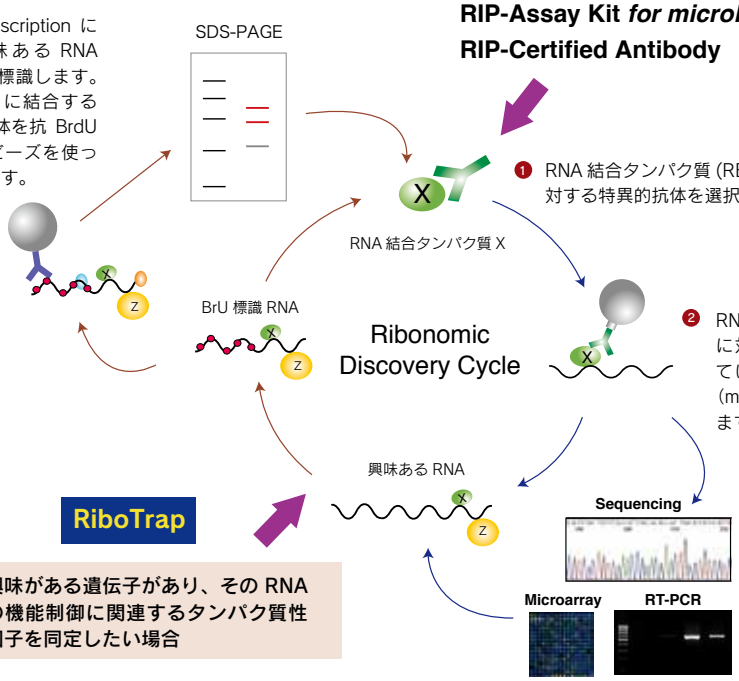
RIP-Chip

興味ある RBP があり、その RBP によって時空間的な制御を受けている RNA サブセット (mRNA/miRNA) を同定したい場合

RIP-Assay Kit
RIP-Assay Kit *for microRNA*
RIP-Certified Antibody

❺ RNA と結合しているタンパク質を電気泳動して分離し、質量分析によって同定します。

❹ *in vitro* transcription により、興味ある RNA を BrU で標識します。その RNA に結合する RNP 複合体を抗 BrdU 抗体結合ビーズを使って精製します。



❶ RNA 結合タンパク質 (RBP-X) に対する特異的抗体を選択します。

❷ RNA 結合タンパク質（RBP-X）に対する抗体を用いて、結合している特定の RNA サブセット（mRNA/miRNA）を免疫沈降します。

❸ 特定の RBP（RBP-X）に結合している RNA サブセットを免疫沈降物から単離し、マイクロアレイや RT-PCR、またはシークエンシングなどの方法で同定します。

RiboTrap

興味がある遺伝子があり、その RNA の機能制御に関連するタンパク質性因子を同定したい場合

RiboTrap Kit

■ 製品情報

コード NO.	製品名	包装	希望納入価格
RN1001	RIP-Assay Kit	10 assays	￥40,000
RN1005	RIP-Assay Kit *for microRNA*	10 assays	￥60,000
RN1011/RN1012*	RiboTrap Kit	10 assays	￥78,000

＊ RN1011 と RN1012 はセット販売となっております。また RN1011 と RN1012 は保存温度が異なりますのでご注意ください。　RN1011：-20℃　RN1012：2–8℃

コード NO.	製品名	交差性	使用法	包装	希望納入価格
RN003M	Anti-EIF2C2(AGO2) mAb	Hu	WB, IP, RIP	200 μg/200 μL	￥60,000
RN029PW	Anti-EIF2C2(AGO2) pAb	Hu, Mo, Rat	WB	100 μL	￥48,000

＊ WB:Western blotting, IP:Immunoprecipitation, RIP: RIP-Assay　Hu:Human, Mo:Mouse

○ RIP-Certified Antibody、RBP antibodyも各種取り揃えております。
詳細はこちらから ☞ http://ruo.mbl.co.jp/product/epigenetics/rip-assay.html

詳しくは
MBL　RIP　検索

miRNA-mRNA ペアリング解析

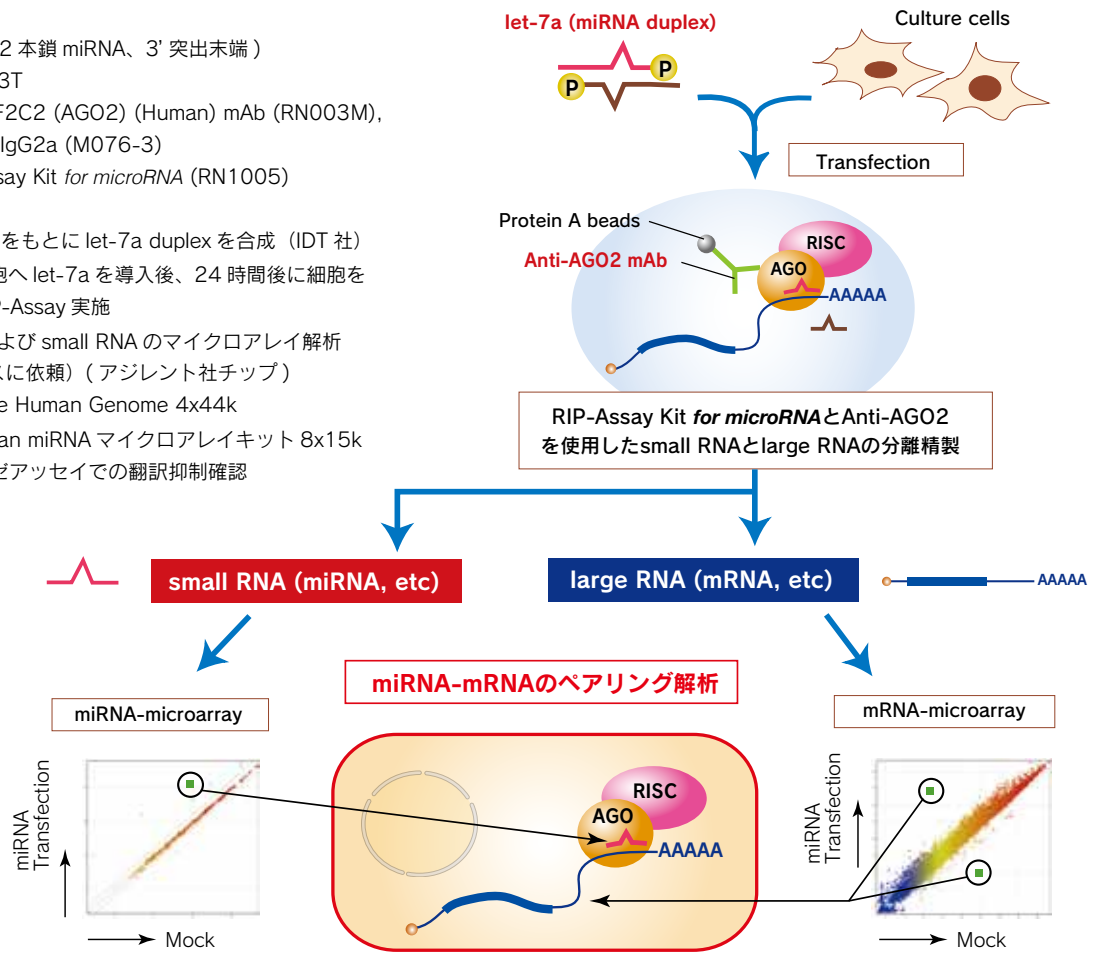
microRNA (miRNA) は、内在性の 21 ～ 25 塩基の短い RNA で、RNA interference (RNAi) 経路を介して遺伝子発現制御に関与することが知られています。miRNA は、主に primary-miRNA (pri-miRNA) としてゲノムから転写された後、Drosha および Dicer といった RNase III 活性を有するタンパク質によるプロセシングを経て、22 塩基程度の 2 本鎖 RNA となります。この 2 本鎖 miRNA は、RNA-induced silencing complex（RISC）に含まれる Argonaute (AGO) ファミリータンパク質に取り込まれた後、片方の miRNA（passenger 鎖、miRNA* と表記）が除去され、もう一方は mature miRNA（guide 鎖）として AGO 内に残ります。AGO に取り込まれた mature miRNA の配列相補性を指標として RISC が作用することにより、標的 mRNA の翻訳抑制や分解といった遺伝子発現制御機構が働くと考えらえています。

近年、miRNA は発生・分化・細胞増殖・アポトーシスなどの様々なプロセスに関与することが報告されてきました。さらに、組織や疾患特異的な発現および発現量の増減が報告されたことから、miRNA のターゲット mRNA の同定は、疾患メカニズムの解明だけでなく、診断や創薬への応用にも重要だと考えられています。しかしながら、miRNA の mRNA への結合にはミスマッチが含まれることや、標的 mRNA の認識に最も重要とされる 5' 末端から 2-8 番目の塩基配列（seed sequence）が 7 塩基と非常に短いことから、1 つの miRNA は複数の mRNA の翻訳制御に関与していると考えられており、miRNA の標的 mRNA の同定は困難とされてきました。これまでに、コンピューター（in silico）でのターゲット mRNA 予測方法が開発されてきましたが、精度の問題上、完全な方法とは言えず、生化学的手法によるターゲット探索方法の開発が求められてきました。

RIP-Assay Kit *for microRNA*（RN1005）は、同一の RNP 複合体中の large RNA と small RNA の両方を回収できるキットです。目的の miRNA を遺伝子導入した後、抗 AGO2 抗体を用いて RIP-Assay を行い、続いて得られた small/large RNA についてマイクロアレイ解析を行うことで、生化学的手法により miRNA の標的 mRNA を効率よく同定することが可能になります（下図）。

[材料・方法]
miRNA: let-7a (2 本鎖 miRNA、3' 突出末端)
細胞： HEK293T
抗体： Anti-EIF2C2 (AGO2) (Human) mAb (RN003M),
Mouse IgG2a (M076-3)
キット：RIP-Assay Kit *for microRNA* (RN1005)

1. let-7a-1 配列をもとに let-7a duplex を合成（IDT 社）
2. HEK293T 細胞へ let-7a を導入後、24 時間後に細胞を回収して、RIP-Assay 実施
3. Large RNA および small RNA のマイクロアレイ解析（オンコミクスに依頼）(アジレント社チップ)
   mRNA: Whole Human Genome 4x44k
   miRNA: Human miRNA マイクロアレイキット 8x15k
4. ルシフェラーゼアッセイでの翻訳抑制確認



[実験の目的]
RIP-Assay Kit *for microRNA* を用いた miRNA-mRNA ペアリング解析の実証例を得るため、let-7a の標的 mRNA の探索を行いました。let-7 は、線虫において最初に同定された miRNA です。let-7 は種を超えてよく保存されており、ヒトでは let-7 ファミリーとして 10 種類の miRNA の存在が知られています。これまでに、癌における let-7 ファミリーの発現の増減が報告されており、そのうちの一つの let-7a は、肺癌、肝細胞癌、腎臓癌、膵臓癌など多くの癌で発現低下が認められています。let-7a の異常な発現低下により癌遺伝子の RAS や HMGA2 が過剰発現することも明らかになっていることから、let-7a をモデル分子として選択しました。

■ 結果・考察

miRNA のマイクロアレイ解析では、let-7a 導入後 24 時間で、total RNA 中の Fold Change (FC) が 98 倍以上、AGO2-RIP RNA では 6 倍以上の miRNA から、let-7a が検出されました。アレイデータでは、let-7a 導入により、他の let-7 ファミリー分子も検出されていますが、これらは let-7 ファミリー間の配列相同性の高さに起因する cross-hybridization によるものと考えられます。Total RNA だけでなく、AGO2-RIP でも let-7a が検出されたことから、導入した let-7a が細胞内の RISC に効率よく取り込まれていることを確認できました（図 1 上段）。

mRNA のマイクロアレイ解析では、興味深いデータが示されています。Total RNA の解析では、let-7a を過剰導入しているにも拘らず、ほとんどの mRNA の発現量に変化が認められませんでした。つまり、let-7a が過剰発現したとしても、mRNA の発現プロファイルにはほとんど影響しないことが示されています。一方、AGO2-RIP RNA 中の mRNA 発現プロファイルは大きく変化しており、Gene-X、Y、Z などは FC が 6 倍以上の値を示しました（図 1 下段）。let-7a の増加に伴い、トランスクリプトームレベルでの変化は生じないが、AGO2 との結合状態が大きく変動する mRNA が多く認められたということは、miRNA が転写レベルではなく翻訳レベルで mRNA の発現を制御しているというモデルを支持する結果となりました。

Gene-X は、TargetScan などの in silico での標的予測報告はされていましたが、生化学的実証例はありませんでした。また、Gene-Y、Z は標的予測報告のない遺伝子でした。let-7a の seed sequence との相補性を指標としてこれら 3 つの遺伝子の標的配列部位を調べると、それぞれ、3' -UTR や CDR に含まれることから、この部分をクローニングしてレポーターベクターに挿入し、実際に let-7a 導入による翻訳抑制が認められるのか検証しました（図 2）。その結果、Gene-X では、let-7a 導入により有意にルシフェラーゼ活性が抑制されました。Gene-X は、let-7a 導入後の AGO2-RIP では AGO2 との結合量が低下していますがルシフェラーゼアッセイでの抑制効果が認められたことから、Gene-X は分解速度が早いため AGO2 との結合量が低下したことが考えられました。以上の結果から、AGO2-RIP-Chip により、let-7 の新規のターゲット mRNA として Gene-X を見出すことができました。

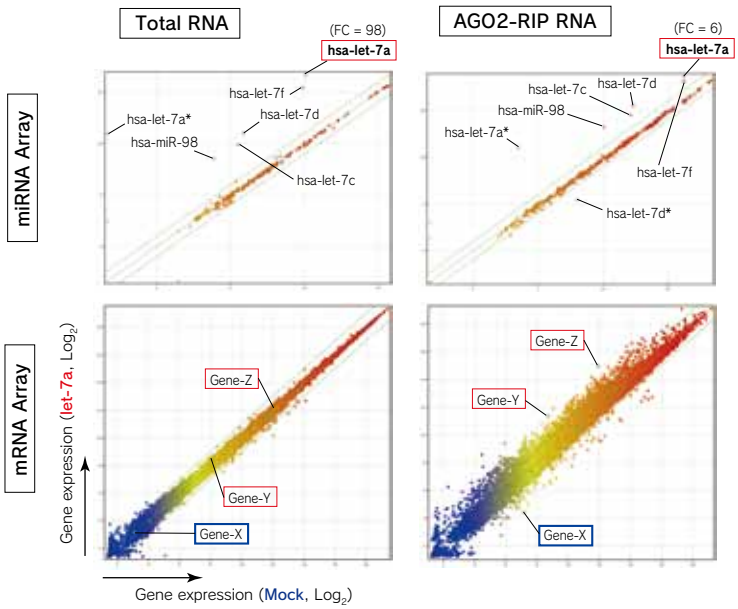


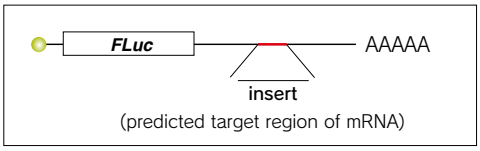
図 1. Let-7a 導入による mRNA 結合状態変化（アレイデータ）

上の 2 つは、total RNA から得られた miRNA（左）および AGO2-RIP により得られた miRNA（右）のスキャッタープロットを示します。同様に、下の 2 つは、total RNA から得られた mRNA（左）および AGO2-RIP により得られた mRNA（右）のスキャッタープロットです。縦軸に let-7a を導入したサンプル、横軸は mock をとり、let-7a 導入による発現変動および結合量の変化を表しています。miRNA アレイのスキャッタープロット中に示した miRNA は、total RNA では FC が 98 倍以上、AGO2-RIP では FC が 6 倍以上変動した miRNA です。mRNA アレイデータで示した Gene-X、Y、Z は、AGO2-RIP において 6 倍以上の結合量の変化が認められました。

本実験で見出された新規ターゲット候補。

TargetScan などの *in silico* での標的予測報告がある。（生化学的実証例は無し）

Construct（Dual-Glo® Luciferase Assay System）



* let-7a (miRNA duplex)は100 nM使用
* Luciferase Assayは、トランスフェクション後24 hに実施

Symbol	Region	Predicted target site	AGO2-RIP FC value
Gene-X	3'UTR	1	6.5
Gene-Y	3'UTR	1	6.4
Gene-Z	CDR	3	8.4

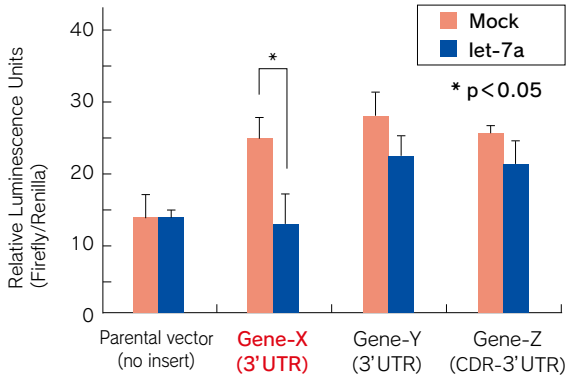


図 2. HEK293T 細胞での Luc レポーターアッセイ（n=3）

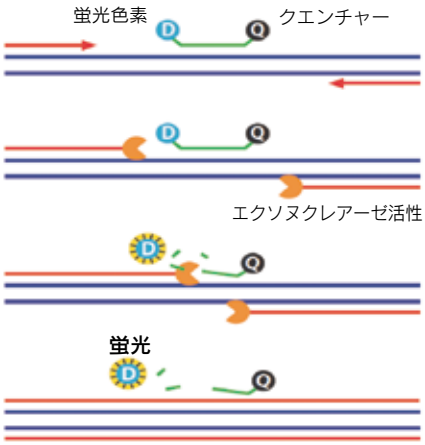
表は Gene-X、Y、Z の let-7a 相補配列の位置および数を示します。Luc レポーターアッセイに使用するベクターは、ホタルルシフェラーゼのコード領域直下に表で示した Gene-X、Y、Z の let-7a 相補配列を含む領域を挿入しています。ベクターおよび let-7a を導入して 24 時間後に細胞を回収してルシフェラーゼ活性を測定しました。グラフの縦軸は、ルシフェラーゼの測定値を Renilla のルシフェラーゼ活性測定値で割って標準化した値です。Gene-X について、let-7a 導入によるルシフェラーゼ活性の低下が認められました。

定量 PCR によるマイクロアレイ発現解析のバリデーション

■ IDT 社 PrimeTime プライマー・プローブ合成サービス

◎ 5' Nuclease Assay のプローブを提供します。
◎ 安い！ 100 回反応分の Mini 合成スケールの設定があります。
・PrimeTime qRCR Assay (プライマー、プローブセット) 12,000 円
・PrimeTime qRCR Probe (プローブを配列で発注) 10,000 円
・インターカレーター法⇒ 5' Nuclease Assay への移行、お試しに最適です。
◎ 遺伝子名で発注可！ 設計作業必要無し。IDT 社の推奨セットを提供します。
◎ 配列も開示！ 納品時に具体的な配列を開示します。
◎ バックグラウンド低いダブルクエンチャープローブ、独自の技術です。
◎ プローブ設計相談も対応します。

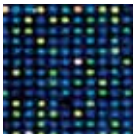
○ 5' Nuclease Assay (プローブ法)



■ 発現解析のバリデーションに活用

◎ マイクロアレイ発現解析およびデータ解析のスクリーニングにより、変動遺伝子候補リストが得られます。
この候補リストのバリデーションのために、PrimeTime qRCR Assay をご活用下さい。
◎ PrimeTime qPCR Assay の Mini 合成スケール（12,000 円 / 本）により、インターカレーター法よりも特異度の高い 5' Nuclease Assay を用いた精度の高い実験を、安価に行えます。
◎ 変動遺伝子の Accession 番号のリストを提示いただきましたら、IDT 社の推奨プライマー・プローブセットを提供します。
< 注文例 >
変動遺伝子候補 50 個に対してバリデーションを行う場合に、内在性コントロールを 2 つ選択すると、PrimeTime qRCR Assay は 52 種類必要であり、52 本× 12,000 円 / 本＝ 624,000 円です。

遺伝子発現解析



(アジレント社 マイクロアレイ)

変動遺伝子候補抽出

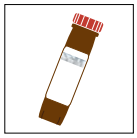
(バリデーション したい遺伝子を選択)

遺伝子名リスト

NM_001101
NM_004048
NM_002046
NM_000181
NM_000190
.....

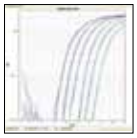
(IDT 社の推奨セットがあるため、設計作業必要無し)

リストで PrimeTime qPCR Assay を注文



(プライマー 2 本とプローブ 1 本が 1 本のチューブで納品)

定量 PCR



(5' Nuclease Assay による特異度の高い実験結果)

○ PrimeTime qPCR Assay の内在性コントロールのセット一覧（ヒト、マウス、ラット）

ヒト

Accession番号	遺伝子名	PrimeTime Assay ID
NM_001101	ACTB	Hs.PT.39a.22214847
NM_004048	B2M	Hs.PT.39a.22214845
NM_002046	GAPDH	Hs.PT.39a.22214836
NM_000181	GUSB	Hs.PT.39a.22214857
NM_000190	HMBS	Hs.PT.39a.22214823
NM_000194	HPRT1	Hs.PT.39a.22214821
NM_006390	IPO8	Hs.PT.39a.19613208
NM_000291	PGK1	Hs.PT.39a.1406561
NM_000937	POLR2A	Hs.PT.39a.19639531
NM_021130	PPIA	Hs.PT.39a.22214851
NR_003286	RN18S1	Hs.PT.39a.22214856.g
NM_001002	RPLP0	Hs.PT.39a.22214824
NM_003194	TBP	Hs.PT.39a.22214825
NM_003234	TFRC	Hs.PT.39a.22214826
NM_021009	UBC	Hs.PT.39a.22214853
NM_003406	YWHAZ	Hs.PT.39a.22214858

マウス

Accession番号	遺伝子名	PrimeTime Assay ID
NM_007393	Actb	Mm.PT.39a.22214843.g
NM_009735	B2m	Mm.PT.39a.22214835
NM_008084	Gapdh	Mm.PT.39a.1
NM_010368	Gusb	Mm.PT.39a.22214848
NM_013551	Hmbs	Mm.PT.39a.22214827
NM_013556	Hprt	Mm.PT.39a.22214828
NM_001081113	Ipo8	Mm.PT.39a.22214844
NM_008828	Pgk1	Mm.PT.39a.22214854
NM_009089	Polr2a	Mm.PT.39a.22214849
NM_008907	Ppia	Mm.PT.39a.2.gs
NM_026020	Rplp2	Mm.PT.39a.3
NM_013684	Tbp	Mm.PT.39a.22214839
NM_011638	TFRC	Mm.PT.39a.22214833.g
XM_001471699	Ubc	Mm.PT.39a.22214846.g
NM_011740	Ywhaz	Mm.PT.39a.22214831

ラット

Accession番号	遺伝子名	PrimeTime Assay ID
NM_031144	Actb	Rn.PT.39a.22214838.g
NM_012512	B2m	Rn.PT.39a.22214834
NM_017008	Gapdh	Rn.PT.39a.11180736.g
NM_017015	Gusb	Rn.PT.39a.22214822.g
NM_013168	Hmbs	Rn.PT.39a.22214829
NM_012583	Hprt1	Rn.PT.39a.22214832
NM_053291	Pgk1	Rn.PT.39a.22214852.g
NM_017101	Ppia	Rn.PT.39a.22214830
NM_022536	Ppib	Rn.PT.39a.22214850
NM_022402	Rplp0	Rn.PT.39a.22214840
NM_001030021	Rplp2	Rn.PT.39a.4
NM_001004198	Tbp	Rn.PT.39a.22214837
XM_340999	Tfrc	Rn.PT.39a.22214841.g
NM_017314	Ubc	Rn.PT.39a.22214842.g
NM_013011	Ywhaz	Rn.PT.39a.22214855.g

質量分析受託サービス

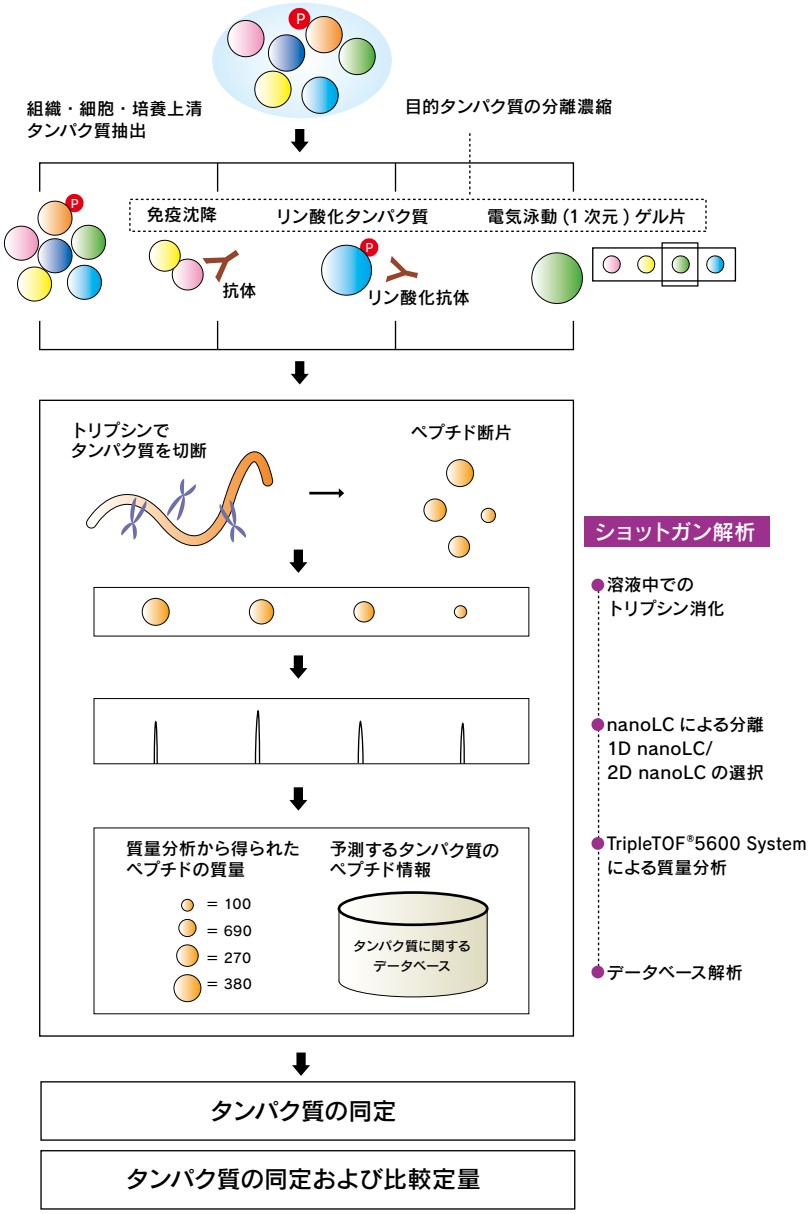
この度 TripleTOF® 5600 System による解析が可能になりました！

◎ 高い分離能：同定タンパク質数が大幅に増加
◎ 高いカバー率：翻訳後修飾にも対応
◎ ESI によるイオン化：サンプル中のタンパク質を網羅的に同定可能

これまで質量分析の経験がない方でも安心のサポート対応 !!

ご利用いただきやすいよう Buffer 置換など前処理も含んだ価格設定に見直しました。

■ 解析の流れ（概要）



■ ショットガン解析
（サンプル量：20 μg 以上）

サンプル数	希望納入価格	納期
1 サンプル	￥400,000	約 4 週間
追加サンプル（2 サンプル目～）	￥300,000	

■ iTRAQ® 試薬を用いた網羅的比較定量解析
（サンプル量：100 μg 以上 *）

サンプル数	希望納入価格	納期
2 サンプル	￥1,400,000	約 4 週間
3 サンプル	￥2,010,000	
4 サンプル	￥2,580,000	
5 サンプル	￥3,090,000	
6 サンプル	￥3,540,000	
7 サンプル	￥3,920,000	
8 サンプル	￥4,500,000	

＊ iTRAQ® 試薬標識時に必要な量

< オプション作業 >

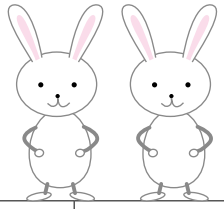
	希望納入価格
タンパク質抽出	￥10,000/サンプル
データベース解析（3 データベース以降）	￥50,000
複数基準での比較（iTRAQ® 解析のみ）	￥50,000/比較

○ 電気泳動バンドからの解析・SILAC 解析またはリン酸化等の修飾タンパク質の解析を希望される方は jutaku@mbl.co.jp までお問い合わせください。（4800 MALDI TOF/TOF Analyzer を使用した解析を希望される方もお問い合わせください。）

Topics

ポリクローナル抗体作製　特別価格キャンペーン

キャンペーン期間：
～12月28日 受注分まで



エコノミーセット A	通常価格	キャンペーン価格
抗原検索 + ペプチド合成 *+ ウサギ 2 羽免疫	200,000 円	160,000 円
エコノミーセット B	**通常価格**	**キャンペーン価格**
抗原検索 + ペプチド合成 *+ ウサギ 2 羽免疫 チェック採血品評価工程付き	245,000 円	196,000 円
エコノミーセット C	**通常価格**	**キャンペーン価格**
持込抗原 ⇒ ウサギ 2 羽免疫	100,000 円	80,000 円
エコノミーセット D	**通常価格**	**キャンペーン価格**
持込抗原 ⇒ ウサギ 2 羽免疫 チェック採血品評価工程付き	145,000 円	116,000 円
リン酸化ポリクローナル抗体作製エコノミーセット	**通常価格**	**キャンペーン価格**
抗原検索 + リン酸化および非リン酸化ペプチド合成 + ウサギ 2 羽免疫 +Affinity 精製 + 非リン酸化抗体吸収	530,000 円	398,000 円
抗体の精製	**通常価格**	**キャンペーン価格**
Affinity 精製　　1 羽分 10 mL	10,000 円	60,000 円

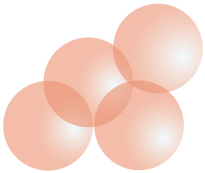
＊ペプチド合成：18aa　純度＞ 90%の場合

ペプチド合成エコノミーサービス　特別価格キャンペーン

キャンペーン期間：
～12月28日 受注分まで

ペプチド合成料金、各種修飾ペプチドも

20% OFF



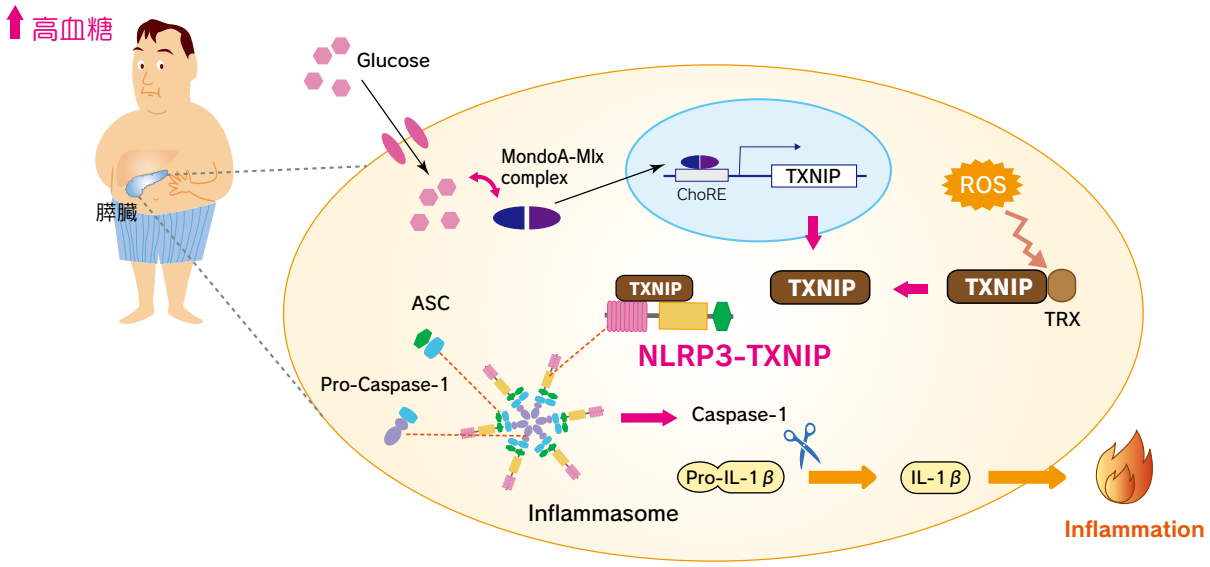
純度90%、収量 5-10 mg、15 mer の場合

通常価格 48,000円　⇒　キャンペーン価格 **38,400円**

○ 対応可能な修飾、納期についてはお問合せください。

CircuLex™ Human TXNIP ELISA Kit

Thioredoxin-interacting protein (TXNIP) は、vitamin D3 up-regulated protein-1 (1, 2) または thioredoxin-binding protein-2 (3) とも呼ばれる、チオレドキシンの内因性阻害物質であり、活性部位のチオール基に結合することによってチオレドキシンの抗酸化機能を阻害します (3, 4)。また、TXNIP は NLRP3- インフラマソームと直接的相互作用をすることにより、高グルコース処理したマウスのβ細胞で生じるカスパーゼ 1 の活性化に重要な役割を果たしていることが示されました (5)。TXNIP の欠損マウスが、他のインフラマソームの活性化（例えば、NLRC4 と AIM2）に影響を及ぼさなかったことから、TXNIP 依存性インフラマソーム活性化は、NLRP3 に特異的なものと考えられています。(5)。
TXNIP の発現は、酸化ストレス、UV 照射、熱ショック、アポトーシスシグナルなど様々な細胞ストレスによって誘導されます (6)。一方、様々なヒト腫瘍においては、多くの場合、その発現が抑制されています (7, 8)。



図：TXNIP による NLRP3 インフラマソームの活性化が 2 型糖尿病における膵島機能不全への進行を引き起こします。

2 型糖尿病の初期段階では、膵島β細胞がインスリンの生産量を増加させることによって、末梢組織のインスリン抵抗性を上回り、高血糖を改善することができます。しかし、病状の悪化により、更にインスリン抵抗性が増すと、β細胞による代償作用が追い付かなくなり、末梢組織でのインスリンシグナルとそれによるインスリン依存性のグルコースの取り込みの減少を引きおこし、高血糖状態が持続します。膵島における慢性的な高血糖状態は解糖系を亢進し、ミトコンドリアの電子伝達系の過剰刺激を介して活性酸素種 (ROS) の産生を促し、チオレドキシンから TXNIP を解離させます。一方、グルコースは MondoA と Max-like protein X の細胞内転写複合体を介して TXNIP の発現を誘導します (5, 9)。この 2 つの経路で増加した TXNIP は NLRP3 インフラマソームを活性化し、カスパーゼ 1 依存的 IL-1 βの成熟化をもたらします。高濃度の IL-1 βはβ細胞の細胞死や機能不全を引き起こし (9, 12)、グルコース誘導性のインスリン分泌の減少につながります。また、浸潤した免疫細胞によって形成された局所的炎症性環境によって、β細胞の障害は更に亢進します、このような過程を経て、重度の高血糖状態が継続するという負のスパイラルに陥り、2 型糖尿病の病状が更に進行して、膵島機能不全に陥ります (10)。
以上のように TXNIP は 2 型糖尿病の病状の進行に関係している可能性が報告されています。このことは、TXNIP の発現は 2 型糖尿病で上昇していること (11, 12) や TXNIP ノックアウトマウスに高脂肪食を与えた場合に、野生型マウスに比較して耐糖能とインスリン感受性が高いことからも強く示唆されています (13, 14)。また、TXNIP ノックアウトマウスと NLRP3 ノックアウトマウスにおいて、膵島におけるグルコース依存性の IL-1 βの分泌が減弱することや ROS 阻害剤の投与によっても同様の影響があることが観察されており (5)、今後、2 型糖尿病の進行を阻止する新たな治療法の開発に結びつく可能性を示唆しています。

1. Wang, Y., De Keulenaer, G. W., and Lee, R. T. J. Biol. Chem. 277: 26496-26500 (2002)
2. Schulze, P. C., De Keulenaer, G. W., Yoshioka, J., and Lee, R. T. Circ. Res. 91: 689-695 (2002)
3. Nishiyama, A., Matsui, M., Iwata, S., and Yodoi, J. J. Biol. Chem. 274: 21645-21650 (1999)
4. Junn, E., Han, S. H., Im, J. Y., Yang, Y., Cho, E. W., and Choi, I. J. Immunol. 164: 6287- 6295 (2000)
5. Zhou R, Tardivel A, Thorens B, Choi I, Tschopp J. Nat Immunol. 11: 136-140 (2010)
6. Fidler IJ, Radinsky R. J Natl Cancer Inst 88: 1700-1703 (1996)
7. Nakamura H, Masutani H, Yodoi J. Semin Cancer Biol 16: 444-451(2006)
8. Goldberg SF, Miele ME, Hatta N, Takata M, Freedman LP *et al.* Cancer Res. 63: 432-440 (2003)
9. Minn AH, Hafele C, Shalev A. Endocrinology.146(5): 2397-405 (2005)
10. Corbett JA. Diabetes. 57(4):797-8 (2008)
11. Parikh H, Carlsson E, Chutkow WA, Johansson LE, Storgaard H *et al.* PLoS Med. 4(5): e158 (2007)
12. Chen J, Saxena G, Mungrue IN, Lusis AJ, Shalev A. Diabetes. 57(4): 938-44 (2008)
13. Hui ST, Andres AM, Miller AK, Davis RA. Proc Natl Acad Sci USA. 105(10): 3921-6 (2008)
14. Oka S, Yoshihara E, Bizen-Abe A, Masutani H. Endocrinology. 150(3): 1225-34 (2009)

■ 製品情報

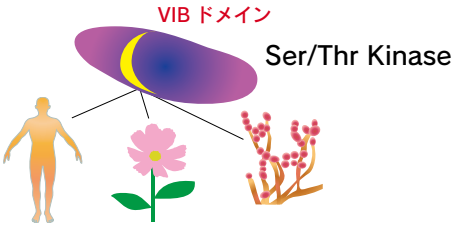
コード NO.	製品名	包装	希望納入価格
CY-8090	Human TXNIP ELISA Kit	96 assays	￥98,000

Topics

抗マルチセリン / スレオニンプロテインキナーゼ抗体

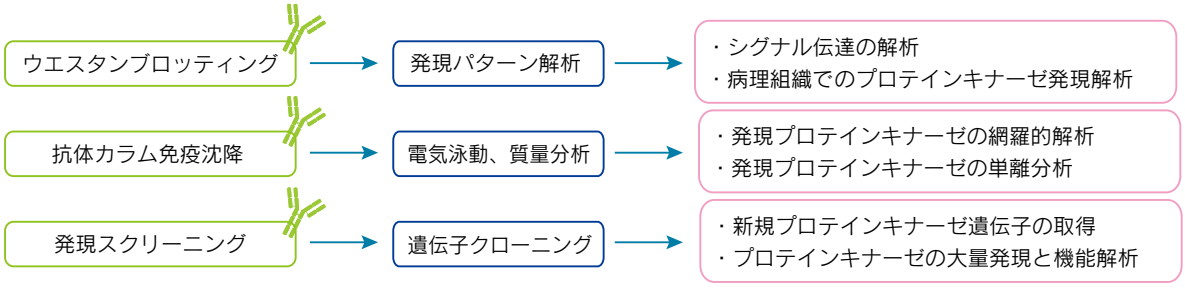
◎ 抗マルチセリン/スレオニンキナーゼ抗体（抗マルチ PK 抗体）は、既知のプロテインキナーゼの発現解析や未知のプロテインキナーゼの網羅的な研究に威力を発揮します。

タンパク質の翻訳後修飾のひとつであるリン酸化は、細胞増殖、分化、代謝など、生体内で起こる様々な生命現象に深く関わっており、プロテインキナーゼと総称される酵素群がこのプロセスの中心的役割を果たしています。プロテインキナーゼの種類は豊富で、ヒトでは 500 種類以上にも及びます。しかしながら、その機能の詳細が解明されたプロテインキナーゼは一部にすぎません。また微生物や植物においては、未知のプロテインキナーゼの存在が指摘されています。

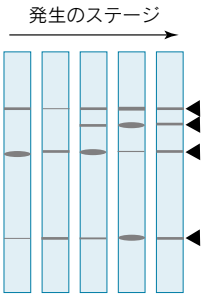


セリン/スレオニンキナーゼの触媒ドメインのサブドメインである VIB ドメインは、種を超えて保存されています。抗マルチＰＫ抗体はこの VIB ドメインのアミノ酸配列を免疫原に用いているため、ヒト、マウス、ラット、植物、キノコなど、幅広い生物種に存在する多種多様なセリン/スレオニンキナーゼを検出することが出来ます。

■ 抗マルチ PK 抗体を活用した研究方法

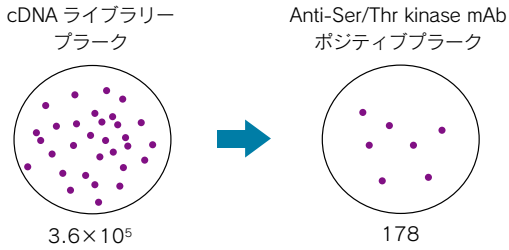


＜例 1＞ 発現パターン解析



発生のステージ、あるいは部位が異なる組織を用いて WB を行うと、検出されるバンドのパターンが異なります。これは各発生ステージや組織にてそれぞれ異なるキナーゼが働いていることを示唆しています。
（図はイメージです。）

＜例 2＞ 発現スクリーニング



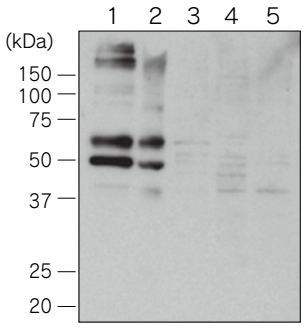
シークエンス

178 種類のポジティブクローンから、15 種類の新規キナーゼ遺伝子が同定されました。

clone	Number of clones	Accession No.
LNZ001	1	AB115547
LNZ002	23	AB113570
LNZ003	5	AB113571
LNZ016	17	AB113572
LNZ019	29	AB115548
LNZ020	23	AB113573
LNZ021	7	AB115549
LNZ024	8	AB115550
LNZ031	33	AB113574
LNZ109	1	AB184970
LNZ149	1	AB184971
LNZ215	12	AB184972
LNZ293	1	AB184973
LNZ344	1	AB184974
LNZ404	1	AB184975

Kameshita, I., *et al.*, J. Biochem. 137, 33-39 (2005) Table 1 を改変

● Western blot analysis of Ser/Thr kinases (Code No. D315-3)



Lane 1: Rat brain extract
Lane 2: Mouse brain extract
Lane 3: WR19L
Lane 4: Raji
Lane 5: 293T

■ 製品情報

コード NO.	製品名	クローン	交差性	使用法	包装	希望納入価格
D314-3	Anti-Ser/Thr Kinase mAb	M1C	Hu, Mo, Rat, Other	WB	100 μg/100 μL	￥48,000
D315-3	Anti-Ser/Thr Kinase mAb	M8C	Hu, Mo, Rat, Other	WB, IP	100 μg/100 μL	￥48,000

・クローン M8C は反応性が強く、キナーゼ由来の鮮明なバンドが確認できます。クローン M1C は、より幅広くキナーゼを検出する傾向があります。
発現スクリー ニングなどで、なるべく広くキナーゼをカバーしたい場合には、両クローンを混合して使用することをご提案します。

Equitech-Bio 社製品

■ Fetal Bovine Serum (FBS)

Equitech-Bio 社の FBS は収集から最終的な製品まで、GMP 基準を遵守して作製されています。 外因性物質による汚染のリスクを無くし、ロット間差の少ない優れた性能を確保しています

メキシコ産・オーストラリア産
FBS サンプル無償提供中！

◎ すべて米国農務省（USDA）の厳格な輸入基準に基づいて製造
◎ 低エンドトキシン (≦ 10 EU/mL)、低ヘモグロビン (≦ 20 mg/dL)
◎ テトラサイクリン検査を実施（0.2ppm 以下）

※ 他動物 (ウマ、ヤギ、新生仔ウシ) 血清も取り扱っております。お問い合わせください。

■ Bovine Serum Albumin (BSA)

サンプル提供可能

◎ 各種グレードとも 10g、50g、100g、500g、1000g 包装を取り揃えております。
◎ 自社製造のため大量バルク供給可能です。

<BSA 各種グレードと用途 >

製品名	COHN FractionV Powder (pH7.0)	COHN FractionV Powder (pH5.2)	Protease-Free Powder (pH7.0)	Reagent Grade Powder	Protease-Free Powder	Fatty acid-Free Powder	Protease, DNase,RNase-Free Powder
製品コード	BAC62	BAC63	BAC65	BAH64	BAH65	BAH66	BAH67
用途							
Culture Media, Animal/Insect Cells	●	●	●				
Culture Media, Microbes	●	●	●				
Enzyme Systems				●	●	●	●
Immunohematology				●	●	●	●
Serology	●	●	●	●			
RIA Systems				●	●	●	●
Blood Banking Reagent	●	●	●	●	●	●	●
Binding and Transport Studies	●	●	●	●	●	●	●
Protein Base or Filler	●	●	●	●			
Protein Supplement Control	●	●	●	●			
Protein Standard (MW, Amino acids and Nitrogen)				●			
In ELISA (Blocks non-specific binding)				●	●	●	●
As Carrier Protein for haptens	●	●	●	●			
精製度	96%		98%	>98%	>98%	>98%	>98%
pH	7.0	5.2	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
精製方法							
Cold ethanol plasma fractionation	●	●	●				
Heat-shock plasma fractionation				●	●	●	●

※ その他のグレード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 (http://ruo.mbl.co.jp) をご覧ください。

■ Immunoglobulin (IgG)

バルク用サンプル提供可能

◎ 高純度 (≧ 97%)
◎ 様々な動物種をご用意しております。
◎ 小包装から大量バルクまでニーズに合った供給が可能です。

Immunoglobulin ラインナップ

ウシ、マウス、ウマ、ヤギ
ラット、ウサギ、ヒト、ヒツジ

■ ヒト血清

◎ 特定の疾患ヒト血清も対応いたします。お問い合わせください。
◎ 疾患ヒト血清にはインフォームドコンセント等の証明書類等が発行可能。

●ヒト血漿も各種取り扱っております。

Topics

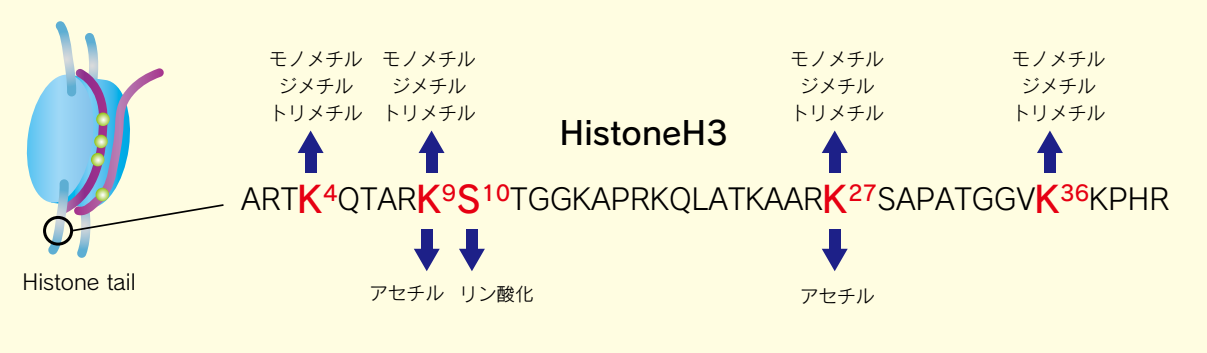
モノクローナル抗体研究所 特集

タンパク質の発現には、ゲノム DNA の（先天的）情報だけでなく、ゲノム DNA のメチル化やヒストンのメチル化、アセチル化、そしてユビキチン化などの後天的な修飾が大きく関わることがわかってきました。この後天的な修飾による遺伝子発現制御を研究する遺伝学の新しい領域をエピジェネティクス（epigenetics）と呼びます。
DNA の塩基配列の変化（変異）を伴わずに病気のなり易さなどの違いが出ることから脚光を浴び、活発な研究が進められています。

■ 信頼と実績の ChIP 用の抗ヒストンモノクローナル抗体

株式会社モノクローナル抗体研究所から販売されている修飾ヒストンを認識する抗体は、WB、免疫染色、そしてクロマチン免疫沈降で反応することが確認されております。
< 論文 >
The organization of histone H3 modifications as revealed by a panel of specific monoclonal antibodies.
Cell Struct Funct. 33(1):61-73 (2008)

< 販売している抗体が認識している部位 >



コード NO. (100 μL)	コード NO. (20 μL)	製品名
MABI0301	MABI0301S	Anti-Histone H3 mAb
MABI0302	MABI0302S	Anti-monomethyl Histone H3 (Lys4) mAb
MABI0303	MABI0303S	Anti-dimethyl Histone H3 (Lys4) mAb
MABI0304	MABI0304S	Anti-trimethyl Histone H3 (Lys4) mAb
MABI0305	MABI0305S	Anti-Acetyl Histone H3 (Lys9) mAb
MABI0306	MABI0306S	Anti-monomethyl Histone H3 (Lys9) mAb
MABI0307	MABI0307S	Anti-dimethyl Histone H3 (Lys9) mAb
MABI0308	MABI0308S	Anti-trimethyl Histone H3 (Lys9) mAb
MABI0310	MABI0310S	Anti-Acetyl Histone H3 (Lys9/27) mAb
MABI0309	MABI0309S	Anti-Acetyl Histone H3 (Lys27) mAb
MABI0321	MABI0321S	Anti-monomethyl Histone H3 (Lys27) mAb
MABI0323	MABI0323S	Anti-trimethyl Histone H3 (Lys27) mAb
MABI0331	MABI0331S	Anti-monomethyl Histone H3 (Lys36) mAb
MABI0332	MABI0332S	Anti-dimethyl Histone H3 (Lys36) mAb
MABI0333	MABI0333S	Anti-trimethyl Histone H3 (Lys36) mAb
MABI0312	MABI0312S	Anti-Phospho Histone H3 (Ser10) mAb
MABI0251	MABI0251S	Anti-Phospho Histone H2B (Ser14) mAb

○ 1 mg/1 mL の濃度です。
○ 20 μL（価格：￥18,000）と 100 μL（価格：￥58,000）の 2 種類の包装を準備しております。
○ 免疫沈降：1 ～ 5 μg/5 μL Sepharose
○ 免疫染色：0.5 ～ 1 μg/mL
○ ウェスタンブロッティング：0.5 ～ 1 μg/mL

MBL エピジェネティクス関連おすすめ抗体

コード NO.	製品名	交差性	使用法	包装	希望納入価格
D319-3	Anti-Brg1 (Smarca4) mAb	Mo	WB, IC, ChIP	100 μg/100 μL	¥48,000
D318-3	Anti-Brm (Smarca2) mAb	Mo	WB, IC, ChIP	100 μg/100 μL	¥48,000
K0115-3	Anti-CAF-1 p150 (Human) mAb	Hu	WB, IC, IH	100 μg	¥20,000
D115-3	Anti-CENP-A (Human) mAb	Hu	WB, IC, IH, ChIP	100 μg	¥40,000
PD030	Anti-CENP-C (Human) pAb	Hu	WB, IP, IC	100 μL	¥48,000
K0171-3	Anti-CENP-E (Human) mAb	Hu	IC	100 μg	¥30,000
PD031	Anti-CENP-H (Human) pAb	Hu	IC	100 μL	¥48,000
PD032	Anti-CENP-I/hMis6 (Human) pAb	Hu	IC	100 μL	¥48,000
D282-3	Anti-CENP-K (ICEN37) (Human) mAb	Hu	WB, IP, IC	100 μg/100 μL	¥48,000
PD018	Anti-CENP-K/ICEN37 (Human) pAb	Hu	WB, IC	100 μL	¥48,000
D283-3	Anti-CENP-L (ICEN33) (Human) mAb	Hu	WB, IP	100 μg/100 μL	¥48,000
D284-3	Anti-CENP-M (ICEN39) (Human) mAb	Hu	WB, IP	100 μg/100 μL	¥48,000
D285-3	Anti-CENP-N (ICEN32) (Human) mAb	Hu	IC	100 μg/100 μL	¥48,000
PD020	Anti-CENP-O (Chicken) (Human) pAb	Hu(w), Chi	WB, IC	100 μL	¥48,000
D286-3	Anti-CENP-T (ICEN22) (Human) mAb	Hu	WB, IP, IC	100 μg/100 μL	¥48,000
PD019	Anti-CENP-50 (Human) pAb	Hu	IC	100 μL	¥48,000
D141-3	Anti-G9a (Mouse) mAb	Hu, Mo	WB	100 μg	¥48,000
D220-3	Anti-GLP mAb	Hu, Mo, Rat, Ham	WB	100 μg	¥42,000
D209-3	Anti-Histone H1 mAb	Hu, Mo, Rat	WB, IP, IC	100 μg	¥48,000
D210-3	Anti-Histone H2A mAb	Hu, Mo, Rat, Ham	WB, IP, IC	100 μg	¥48,000
D212-3	Anti-Histone H2B mAb	Hu, Mo, Rat, Ham	WB, IP, IC	100 μg	¥48,000
D214-3	Anti-Histone H4 mAb	Hu, Mo, Rat, Ham	WB, IP, IC	100 μg	¥48,000
M137-3	Anti-HMGB1(HMG1) (Human) mAb	Hu, Mo, Rat	WB	100 μg	¥48,000
BMP001	Anti-HP1 α (Human) pAb	Hu, Mo	WB, IP, IC, IH	100 μL	¥45,000
BMP002	Anti-HP1 β (Human) pAb	Hu, Mo, Rat, Ham	WB, IP, IC, IH	100 μL	¥45,000
K0166-3	Anti-MAD1 (Human) mAb	Hu	WB, IP, IC	100 μg	¥30,000
K0167-3	Anti-MAD2 (Human) mAb	Hu, Mo, Rat	WB, IP	100 μg	¥30,000
D289-3	Anti-Np95 (Mouse) mAb	Mo	WB, IP, FCM, IC, IH	100 μg/100 μL	¥48,000
PM069	Anti-NRF2 pAb	Hu, Mo(w), Rat(w), Ham(w)	WB, IP, IC, IH	100 μL	¥48,000
D215-3	Anti-NuMA mAb	Hu	WB, IP, IC	100 μg	¥48,000
PM006	Anti-Phospho-Histone H3 (Ser28) (Human) pAb	Hu	WB, IC	100 μL	¥48,000
PM006-A48	Anti-Phospho-Histone H3 (Ser28) (Human) pAb-Alexa Fluor® 488	Hu	IC	100 μL	¥58,000
M041-3	Anti-PML (Human) mAb	Hu	WB, IP, FCM, IC	100 μg	¥48,000
PM001	Anti-PML (Human) pAb	Hu	FCM, IC	100 μL	¥48,000
D139-3	Anti-Ring1B (Mouse) mAb	Hu, Mo, Ham	WB, IP	100 μg	¥48,000
K0183-3	Anti-RIZ (Human) mAb	Hu	IP, IC	100 μg	¥30,000
D221-3	Anti-Sap155 mAb	Hu, Mo	WB, IP, IC	100 μg	¥48,000
K0096-3	Anti-Smad4 (Human) mAb	Hu, Mo, Rat	WB, IP	100 μg/100 μL	¥20,000

＊ WB:Western blotting, IP:Immunoprecipitation, FCM:Flow cytometry, IC:Immunocytochemistry, IH:Immunohistochemistry　Hu:Human, Mo:Mouse, Ham:Hamster

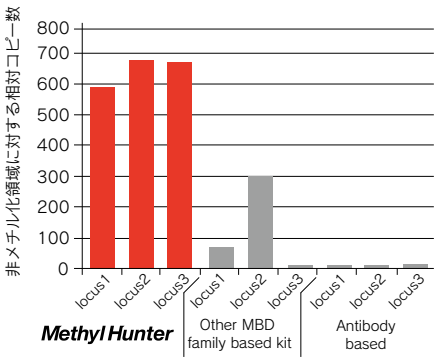
■ Methyl Hunter MBD1-based Methylated DNA Enrichment Kit　Methyl Hunter

◎ MBD1 タンパク質を利用したメチル化 DNA 濃縮 Kit です。
◎ 高収率！抗体や他の MBD タンパク質を使用した方法よりも高い濃縮度を実現しました。
◎ locus に偏りなく効率良く二本鎖メチル化 DNA が濃縮ができます。

コード NO.	製品名	包装	希望納入価格
5270-100 5270-200*	Methyl Hunter MBD1-based Methylated DNA Enrichment Kit	25 tests	¥48,000

＊ 5270-100 と 5270-200 は、セットでの販売となります。

回収溶液内に含まれる非メチル化ゲノム領域の相対コピー数（3 ローカスの平均）を 1 とした時のメチル化ローカス（locus 1 ～ 3）のコピー数を示しています。MBD1 を使った実験では、Locus 1 ～ 3 いずれも 500 ～ 700 倍もの高い濃縮率が確認されました。
データご提供：九州大学 生体防御医学研究所 一柳 健司 先生

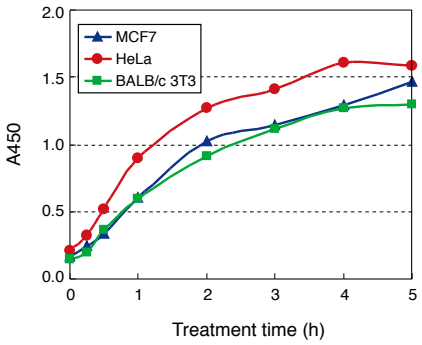


Histone Acetylation Assay Kit

アセチル化ヒストンを認識する抗体を用いて、細胞内のヒストンのアセチル化レベルを Cell ELISA 法により測定するキットです。ヒストンのアセチル化は、ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤により亢進されますが、このキットを用いることにより HDAC 阻害剤の培養細胞に対する作用を直接検討できます。

株式会社サイクレックスは、アセチル化部位特異的抗体を用いたアセチル化関連酵素活性およびアセチル化レベルの測定原理について、米国で特許を取得しています。
　米国特許番号 6,884,597

HDAC阻害剤TSA処理 (0.25 μM)による
ヒストンアセチル化レベルの変化



■ 製品情報

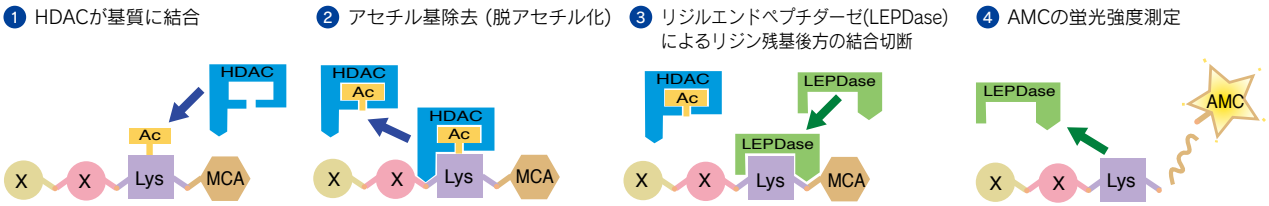
コード NO.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1140	Cellular Histone Acetylation Assay Kit	96 assay × 2	￥70,000
CY-M1029	Anti-Acetylated Histone/p53 (Lys382) mAb	100 μg	￥50,000

HDAC Deacetylase Fluorometric Assay Kit

クラス I ヒストン脱アセチル化酵素群 HDACs（HDAC1、2、3、および 8）は、酵母 RPD3 と相同性を持ち、普遍的に発現しています。これらの HDACs は、癌抑制遺伝子産物 Rb などと結合し転写抑制を担っています。細胞内では、ヒストンは低アセチル化状態にあり、HDACs の作用は広範かつ強力であると考えられます。HDAC 阻害物質は抗癌剤として期待されており、その探索や臨床開発が活発に行われています。HDAC8 は、HDAC1 や HDAC3 とは 43 %しか相同性がなく、既存の HDAC 阻害剤の HDAC8 に対する選択性は HDAC1 や HDAC3 とは異なっていることが報告されています。HDAC8 もヒト腫瘍細胞株の増殖に重要であり、このサブタイプに選択的な阻害剤は新しい抗癌剤として有望であると考えられています。

株式会社サイクレックスは、世界に先駆けペプチダーゼのペプチド分解活性がリジン残基のアセチル化によって変化することを利用してアセチル化 / 脱アセチル化酵素活性を測定できることを見出し、日本、ヨーロッパ、カナダおよび米国で特許を取得しています。
　日本国特許 4,267,043　　米国特許番号 7,033,778　7,256,013　　ヨーロッパ特許番号 1,243,658
　カナダ特許番号 2,392,711

測定原理



MCA : 4-methyl-coumaryl-7-amide　　AMC : 7-amino-4-methylcoumarin

■ 製品情報

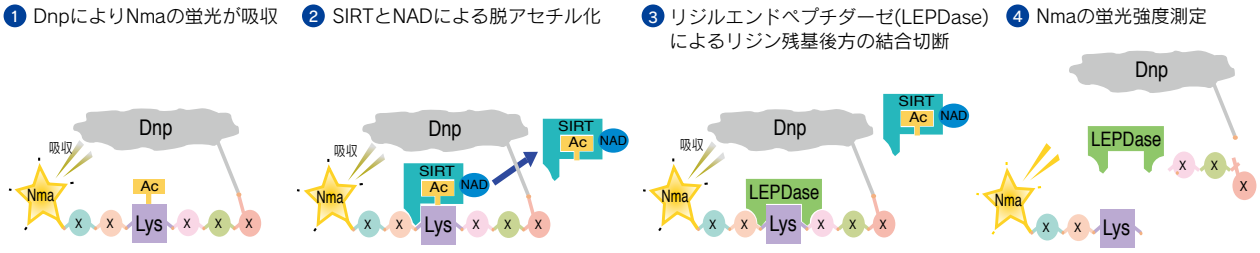
コード NO.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1150	HDACs Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥58,000
CY-1158	HDAC8 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥70,000
CY-P1011	Anti-HDAC1 pAb	100 μg	￥40,000
CY-P1012	Anti-HDAC2 pAb	100 μg	￥40,000

～ SIRT1 は長寿関連遺伝子としても注目されています。～

SIRT Deacetylase Fluorometric Assay Kit

ヒストン脱アセチル化酵素は、クラス Ⅰ、Ⅱ、Ⅲの３つのファミリーに分類されています。クラスⅢに属する Sir2/SIRT ファミリーは、クラス Ⅰ や Ⅱ とは異なり、トリコスタチン A に非感受性であり、酵素の活性化には NAD^+ (Nicotinamide adenine dinucleotide) を必要とします。SIRT ファミリーの活性を制御する薬剤は、種々の疾患治療薬として期待されています。SIRT1 は核に局在し、p53、NF- κ B、forkhead 転写調節因子およびヒストンを脱アセチル化します。また、酸化還元状態に対応して筋肉分化の抑制に関与することが報告されています。SIRT3 は、その N 末端の 25 アミノ酸残基を介してミトコンドリアに局在します。不活性型のタンパク質として合成された後、ミトコンドリアマトリクスでペプチダーゼ処理され、28 kDa の活性化型酵素に変換されることが報告されています。

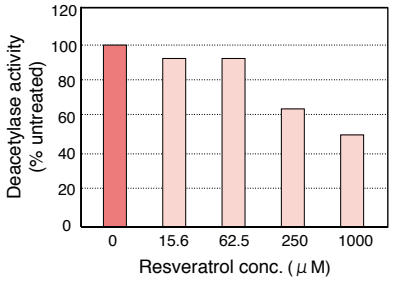
測定原理



SIRT1とResveratrol

CycLex SIRT1 Deacetylase Fluorometric Assay Kit では、他社製品を用いて報告されてきた Resveratrol によるアーティファクトである脱アセチル化酵素活性の上昇作用は検出されません。これは、CycLex 社独自のアセチル化基質ペプチドのデザインとその採用によるものであり、本製品を用いることにより SIRT1 本来の脱アセチル化酵素活性を正確に測定できることを示唆しています。本製品は、SIRT1 の活性化物質や阻害物質のスクリーニングに適していると考えられます。（ただし、全ての化合物や薬剤によるアーティファクトが生じないことを保証するものではありません。）

SIRT1活性に対するResveratrolの影響



<参考文献>

(1) Kaeberlein, M. *et al. J. Biol. Chem.*, **280**:17038–17045, 2005

(2) Borra, M. T. *et al. J. Biol. Chem.*, **280**: 17187–17195, 2005

(3) Pacholec, M. *et al. J. Biol. Chem.*, **285**: 8340–8351, 2010

(4) Ledford H. News "Ageing: Much ado about ageing." *Nature* **464**: 480–481, 2010

■ 製品情報

コード NO.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1151	SIRT1/Sir2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-1152	SIRT2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-1153	SIRT3 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-1156	SIRT6 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-E1151	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT1	100 μg	￥50,000
CY-E1152	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT2	100 μg	￥50,000
CY-E1153	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT3	100 μg	￥50,000
CY-E1156	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT6	100 μg	￥50,000
CY-P1016	Anti-SIRT1 pAb	100 μg	￥50,000

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

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研究用試薬TOPから
バナーをクリック！

キャンペーンのお知らせ

- **糖鎖解析1次解析キャンペーン** 2013年3月29日 お申し込み分まで
  1次解析通常価格500,000円→キャンペーン価格298,000円 約40%OFF!
- **ポリクローナル抗体作製エコノミーセット 特別価格キャンペーン** 2012年12月28日 お申し込み分まで
  エコノミーセットA～D、リン酸化ポリクローナル抗体作製エコノミー、Affinity精製が10～40%OFF!!
- **ペプチド合成エコノミーサービス 特別価格キャンペーン** 2012年12月28日 お申し込み分まで
  ペプチド合成料金、各種修飾ペプチドが20%OFF!!
- **イルミナ社 HumanMethylation450受託解析キャンペーン** 2012年12月28日 お申し込み分まで
  HumanMethylation450を、98,000円/1サンプルにてご提供！！（2サンプルからお受けします。）
- **アジレント社 DNAマイクロアレイ受託解析キャンペーン** 2012年12月28日 お申し込み分まで
  全ゲノム発現解析アレイ（Hu, Mo, Rat）を、95,000円/1解析にてご提供！！（2サンプルからお受けします。）
- **モノクローナル抗体作製受託サービス 特別価格キャンペーン** 2012年11月30日 お申し込み分まで
  スタンダードサービス、ステップ・バイ・ステップサービスが25%OFF!!
- **お友達紹介 タグ キャンペーン** 2012年11月30日 出荷分まで
  ご紹介者＆サンプルをリクエストされたお友達に、もれなくQUOカード1000円分をもれなくプレゼント！

学会情報

- ヒト多能性幹細胞：臨床応用最前線セミナー（2012年11月29日 品川コクヨホール） ：出展
- 第41回 日本免疫学会学術集会（2012年12月5-7日 神戸国際展示場） ：出展
- 第35回 日本分子生物学会年会（2012年12月11-14日 福岡国際会議場） ：出展

Copyright © 2012 Medical & Biological Laboratories, All Rights Reserved.

2012.11
144241-12111120E

販売元
MBL 株式会社 医学生物学研究所
http://ruo.mbl.co.jp/

◎営業推進部 基礎試薬グループ
〒460-0008 名古屋市中区栄4丁目5番3号 KDX名古屋栄ビル10階
TEL：(052) 238-1904 FAX：(052) 238-1441
E-mail：support@mbl.co.jp