

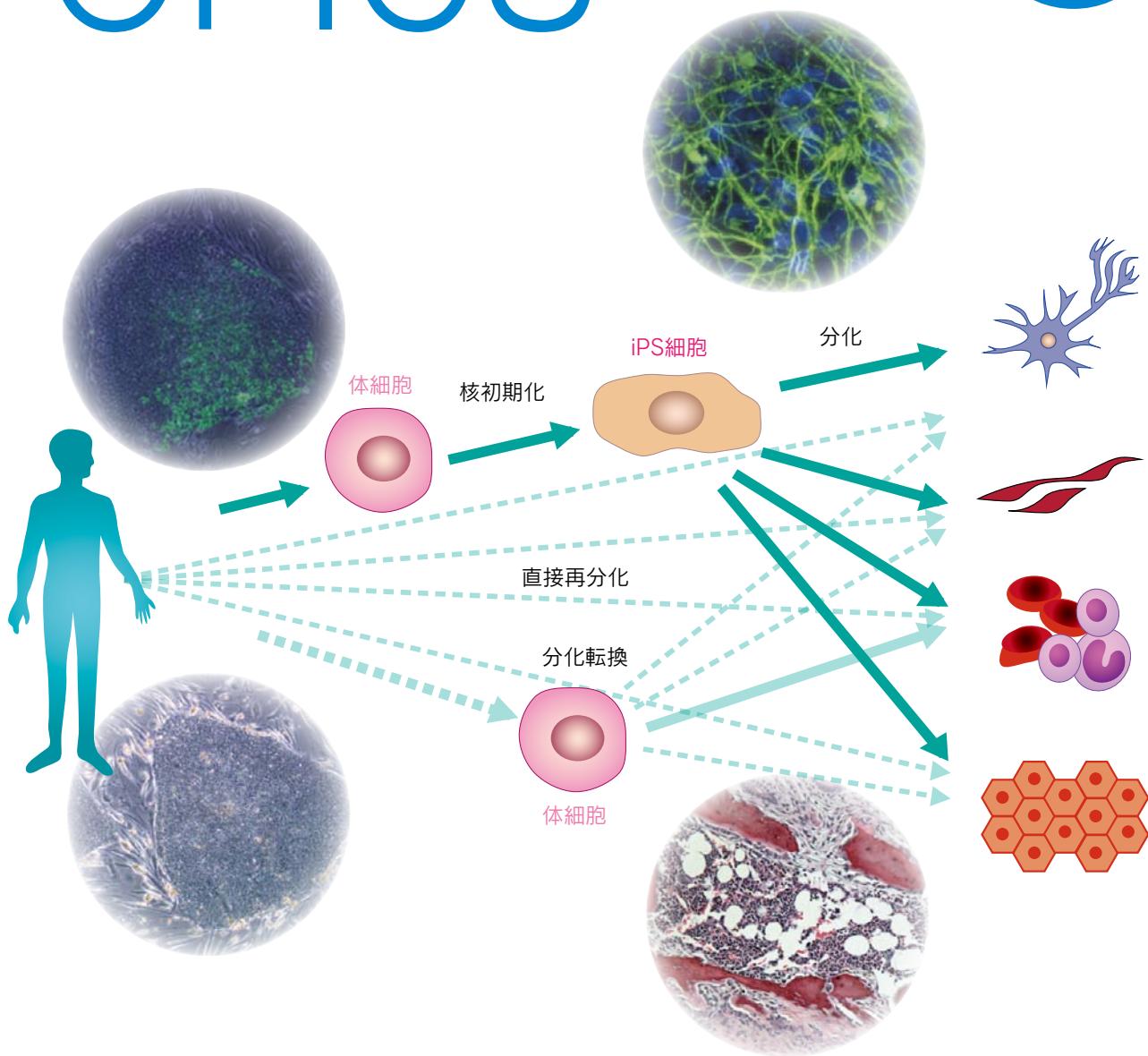
# MBL RUO TOPICS

MBL

研究用試薬

vol. 9

Mar. 2013



特集

## 再生医療

特別寄稿：慶應義塾大学医学部 教授 福田 恵一 先生  
～SeVベクターを利用したTiPS細胞樹立とその臨床応用への期待～

### <Topics>

- ◎ 分子間相互作用解析装置 FlucDEUX™とその使用例
- ◎ Ab-Match キットシリーズ ~MICA、MICB 定量測定系~
- ◎ ヒトフュージョンパートナー SPYMEG
- ◎ PrimeTime 定量 PCR プライマー・プローブ合成サービス
- ◎ 次世代シークエンス用カスタム DNA 合成サービス
- ◎ MHC class II Tetramer ~I-A<sup>b</sup> Eα<sub>52-68</sub> Tetramer-PE~
- ◎ HIV-1 p24 抗原定量キット
- ◎ アプリケーションノート ~タグ融合タンパク質精製キット~
- ◎ リアルタイム PCR 用マスターミックス
- ◎ CircuLex UCHL1 ELISA Kit

\* RUO は Research Use Only の略語となります。

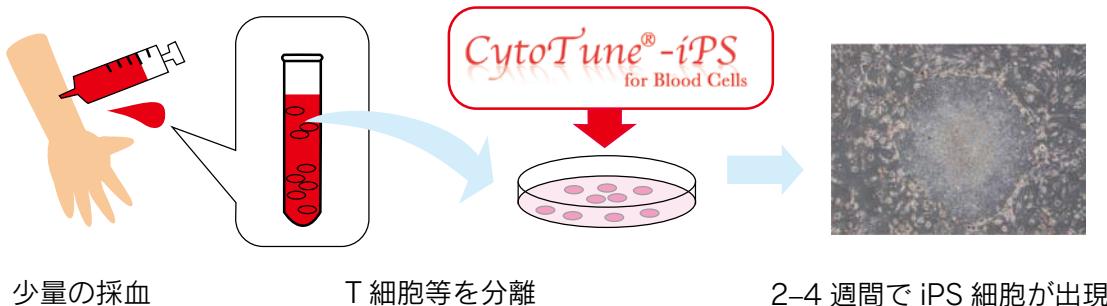
株式会社 医学生物学研究所

<http://ruo.mbl.co.jp/>

# 特集：再生医療

# CytoTune<sup>®</sup>-iPS for Blood Cells

ごく少量の末梢血から iPS 細胞を！



## CytoTune<sup>®</sup>-iPS とは？

センダイウイルス (SeV) は、ゲノムが RNA より構成されていますが、レトロウイルスと異なり RNA のまま細胞質に留まり、そこで複製・転写・翻訳が行われます。SeV より作製された SeV ベクターの最大の特長は、細胞核内に遺伝情報が入らず宿主の DNA 配列の中に組み込まれないため、染色体に傷を付けることなく目的の遺伝子を発現させることができるのです。そのため、レトロウイルスベクターを用いた場合に懸念される発がん等の好ましくない形質転換を考慮する必要がありません。比較的 DNA が組み込まれにくいベクターであるアデノウイルスベクターやアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを用いた場合にも、ゲノムが DNA より構成されている限りこの危険性が伴います。この特長に加えて広範な細胞に高率で感染するという SeV ベクターの特長を利用し、安全かつ効率よく iPS 細胞作製するためにデザインされたベクターが CytoTune<sup>®</sup>-iPS です。

CytoTune<sup>®</sup>-iPS を用いて誘導した iPS 細胞は、染色体に傷がなくその上、継代に伴い、徐々に CytoTune<sup>®</sup>-iPS が消えていき誘導因子もベクターも残存しない iPS 細胞となります。従いまして、CytoTune<sup>®</sup>-iPS を用いることで、最初の材料となる細胞の持つ遺伝情報と全く同じ遺伝情報をもつ iPS 細胞を樹立することができます。

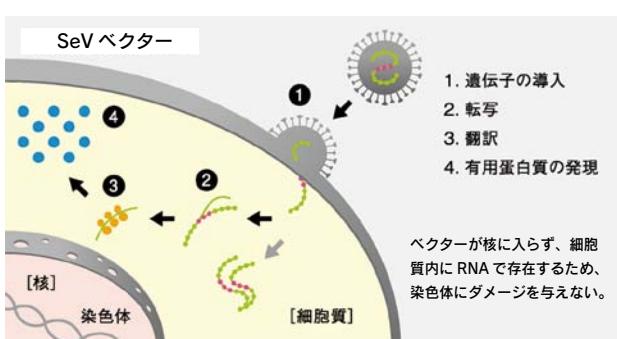
### 本製品を使用した iPS 細胞樹立法の特長

#### ○末梢血の血球細胞を用いる

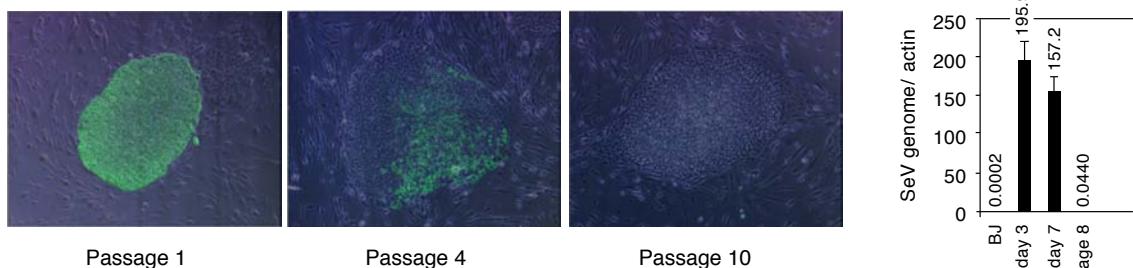
- ・数百μL の血液から iPS 細胞の樹立が可能
- ・簡便かつ低侵襲な細胞取得のため、ドナーの負担が軽減
- ・初期から無菌培養が可能（口腔粘膜等では除菌が必要）

#### ○SeV ベクターによる遺伝子導入

- ・iPS 細胞樹立の操作が簡便、かつ誘導効率が高い
- ・導入遺伝子が染色体に挿入されない
- ・得られた iPS 細胞のクローニング間の差が小さい
- ・ベクター、搭載した誘導因子が含まれない
- iPS 細胞の樹立が可能

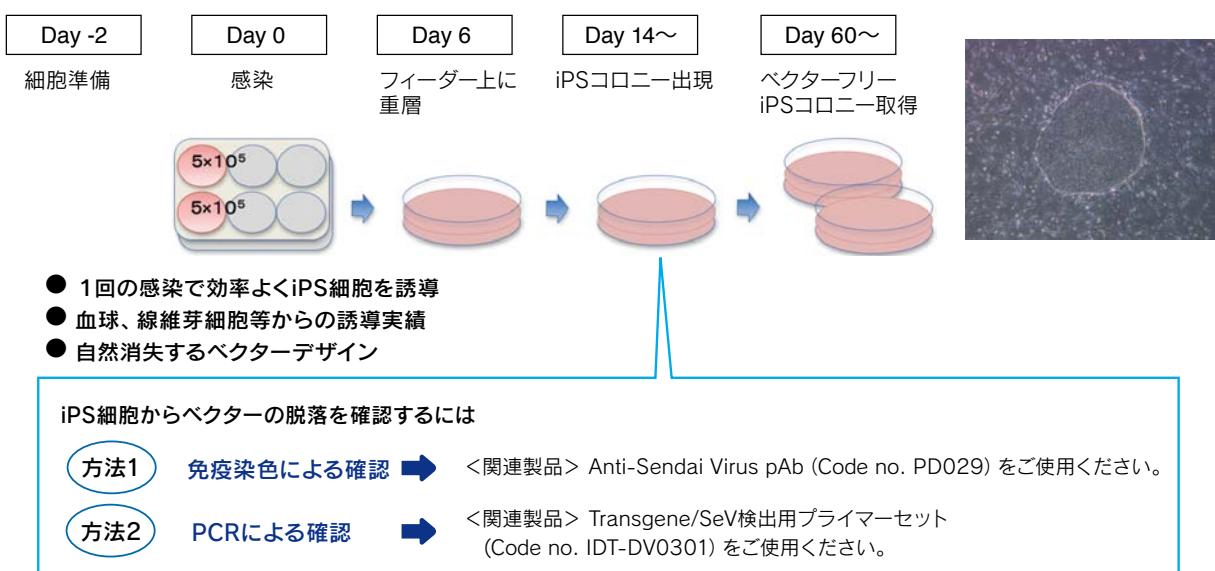


多様な病気の解明や治療研究に！



継代に伴い CytoTune®-iPS は徐々に消えていきます。(Anti-Sendai Virus pAb (Code no. PD029) を使用)

## CytoTune®-iPS を使用した iPS 細胞樹立の流れ



手順についてはMBLライフサイエンスサイト (<http://ruo.mbl.co.jp/>) 掲載のCytoTune®-iPS能書をご覧ください。

### ■ 文献情報

- < TiPS (T 細胞由来 iPS) 細胞の樹立に関する参考文献 >
- Seki T, et al., Nat. Protoc. 7: 718–28. 2012  
 Seki T, et al., Curr. Protoc. Stem Cell Biol. 18: 4A.3.1. 2011  
 Seki T, et al., Cell Stem Cell 7(1): 11–4. 2010  
 <その他関連文献>  
 Nishio M, et al., Cell Metab. 16(3): 394–406. 2012  
 Yusa K, et al., Nature 478(7369): 391–4. 2011  
 Ban H, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 108: 14234–9. 2011  
 Fusaki, et al., Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci. 85(8): 348–62. 2009

### ■ 製品情報

Code no.	製品名	内容量	価格（税別）
DV-0301-1	CytoTune®-iPS	3 回分	¥250,000
DV-0302	CytoTune®-iPS	1 回分	¥100,000
DV-0303C	CytoTune®-iPS for Blood Cells	1 回分	¥350,000

\* CytoTune®-iPS の内容

CytoTune®-iPS は、山中 4 因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を搭載した 4 種類の SeV ベクターからなります。コード No. DV-0301-1 を使用する場合、ヒト線維芽細胞株 BJ 細胞  $1 \times 10^6$  に対して 3 回、コード No. DV-0302 を使用する場合、ヒト線維芽細胞株 BJ 細胞  $1 \times 10^6$  に対して 1 回の実験が可能です (moi=3)。コード No. DV-0303C を使用する場合、 $1 \times 10^6$  の浮遊系細胞に対して moi=30 での実験が可能です。

- ・本製品にはラベルライセンスが同封されています。
- ・本製品は、iPS アカデミアジャパンからライセンスを受けティナベック社で製造されています。
- ・商業目的利用をご希望の方は、直接ティナベック社 ([cytotune@dnavec-corp.com](mailto:cytotune@dnavec-corp.com)) にご相談下さい。
- ・本製品は、カルタヘナ法該当品です。ご購入前に各機関における機関内承認が必要になります。

● その他分化誘導因子に興味がある方は MBL ライフサイエンスサイト>総合受託サービス>センダイウイルスベクターの構築をご覧ください。

## 特別寄稿：

# SeV ベクターを利用した TiPS 細胞樹立とその臨床応用への期待

福田 恵一 先生

(慶應義塾大学 医学部循環器内科 教授)



(福田 恵一 先生)

iPS 細胞は患者の体細胞から作製可能な多能性幹細胞であり、新たな細胞移植療法への応用や遺伝性疾患の病態研究、治療開発への応用が期待されている。iPS 細胞の樹立法も多様な方法が報告されており、ヒト血液細胞からの樹立法は iPS 細胞の臨床応用を加速することが期待されている。患者の体から採取するということを念頭に置けば iPS 細胞樹立の目的が疾患解析であっても細胞移植療法であっても細胞採取方法は低侵襲であるほうが望ましい。2007 年、中山教授による最初のヒト iPS 細胞の報告では成人の皮膚由来の線維芽細胞を用いていた [1, 2] が、その後の研究では様々な体細胞がリプログラミング可能であることが示されている。その中でも血液細胞は細胞採取の簡便性、低

侵襲性の点から臨床応用にとって非常に魅力的である(図 1)。

センダイウイルスベクターを用いた iPS 細胞の樹立法 [3] では、センダイウイルスベクターは、細胞質にとどまって、RNA を転写して蛋白質を合成することから、導入された細胞の染色体に影響を与えることなく、挿入による遺伝子の変異や染色体構造変化の危険性がないといった特徴を持つ。さらに、温度感受性の変異株を用いることで樹立後の外来遺伝子の残存を避けることが可能である [4]。また、哺乳類の多くの細胞、組織に効率良く遺伝子を導入できるため、iPS 細胞の臨床応用に向けて非常に期待される技術である。

一方で T 細胞は血球細胞の中でも末梢血から簡単に得ら

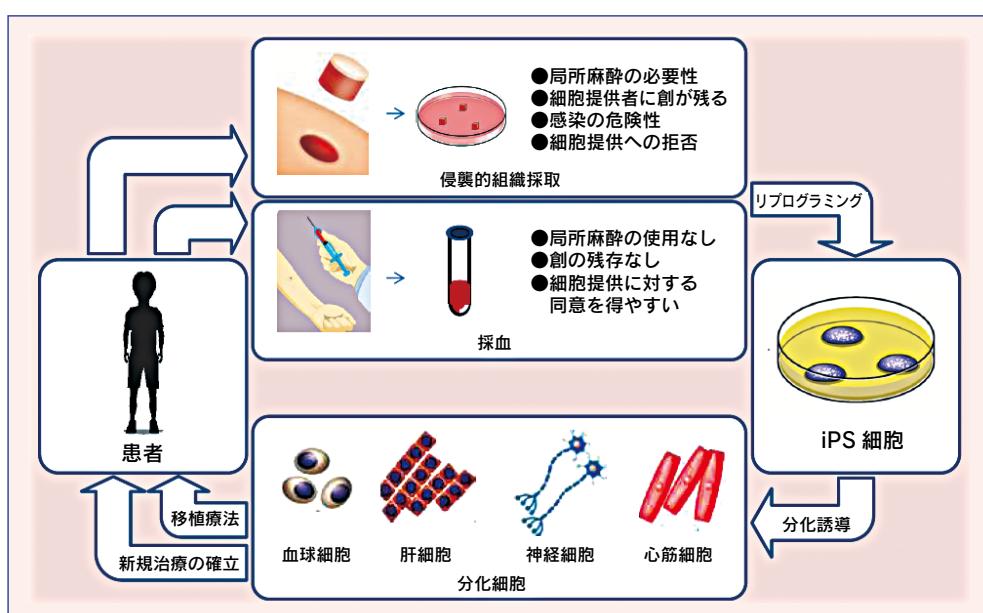


図 1 : iPS 細胞の臨床応用

iPS 細胞の臨床応用の方法として、患者自身の細胞による移植療法の実現、患者から作製した iPS 細胞を用いた新薬・治療法の開発が挙げられる。組織採取を低侵襲にすることで、iPS 細胞樹立の対照となる症例の拡大が期待される。

れ、抗 CD3 モノクローナル抗体を培養皿の表面に定着させ、IL-2 を添加した培養液を用いて活性化することで体外において培養や増幅が簡便に行えることが知られている。特に興味深いことに、センダイウイルスベクターは活性化していないヒト T 細胞にはほとんど感染しないが、活性化ヒト T 細胞には非常に高い感染効率を示すという特徴を持つ [5, 6]（図 2：文献 8 より一部修正して引用）。これらのことから、我々はセンダイウイルスベクターと T 細胞を組み合わせ、効率的かつ低侵襲に残存挿入遺伝子のない iPS 細胞が樹立可能であることを報告した [6-8]（図 3）。

近年では由来となった T 細胞で起きた TCR 関連遺伝子の組み替えパターンが iPS 細胞樹立後もそのまま維持されることを利用し、抗原特異的な細胞障害性 T 細胞からセンダイウイルスベクターを用い iPS 細胞を樹立し、分化誘導により再度抗原特異的な細胞障害性 T 細胞を得たという報告 [9, 10] もあり、T 細胞由来の iPS 細胞の新たな免疫療法への応用も期待される。当樹立法を臨床、研究に応用する事により今後の再生医療研究の更なる進歩が期待されると考えられる。

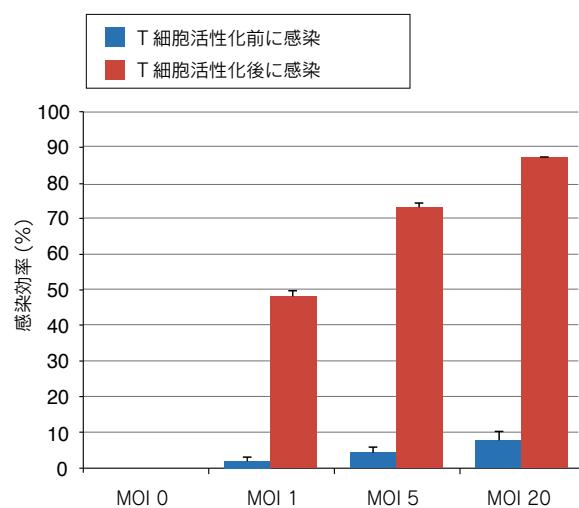


図 2：T 細胞に対するセンダイウイルスベクターの感染効率

T 細胞活性化前後に GFP をコードしたセンダイウイルスベクターを感染させ、その感染効率を FACS で解析し比較した。

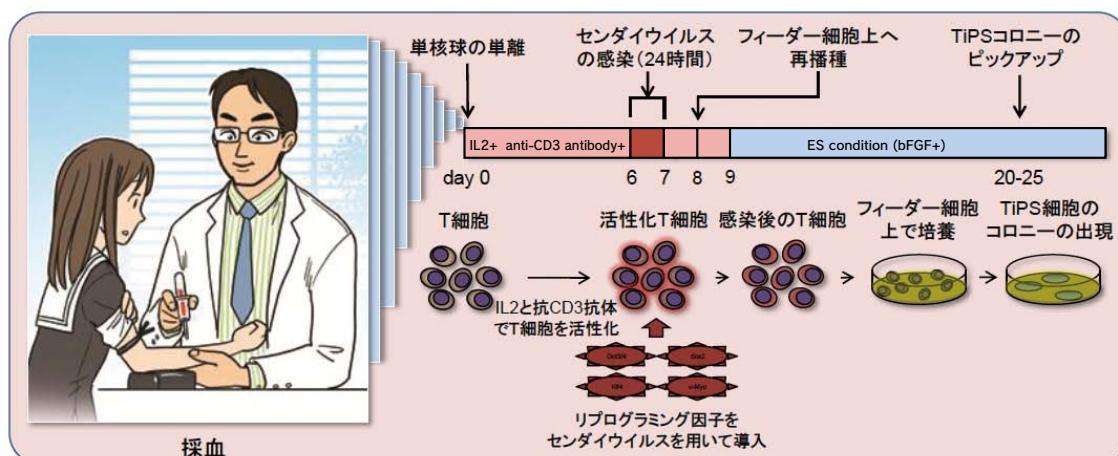


図 3：T 細胞とセンダイウイルスベクターを用いた樹立プロトコール

採血後 6 日目でセンダイウイルスベクターによる遺伝子導入を行い、8 日目にフィーダー細胞上へ再播種、9 日目から ES 細胞培養条件とした。採血後 25 日前後で ES 細胞様のコロニーの出現が認められた。

## ■ 文献

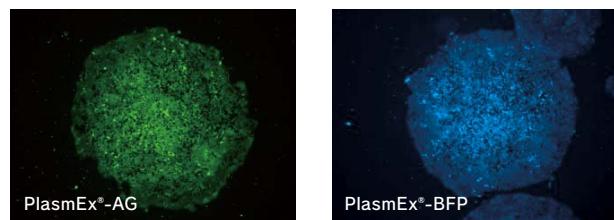
1. Takahashi K, et al., Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 131(5): 861-72. 2007
2. Yu J, et al., Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*, 318(5858): 1917-20. 2007
3. Fusaki N, et al., Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, 85(8): 348-62. 2009
4. Ban H, et al., Efficient generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by temperature-sensitive Sendai virus vectors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108:14234-9. 2011
5. Okano S, et al., Recombinant Sendai virus vectors for activated T lymphocytes. *Gene. Ther.*, 10(16): 1381-91. 2003
6. Seki T, S Yuasa, and K Fukuda, Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus. *Nat. Protoc.*, 7(4): 718-28. 2012
7. Seki T, et al., Generation of induced pluripotent stem cells from human terminally differentiated circulating T cells. *Cell Stem Cell*, 7(1): 11-4. 2010
8. Seki T, S Yuasa, and K Fukuda, Derivation of induced pluripotent stem cells from human peripheral circulating T cells. *Curr. Protoc. Stem Cell Biol*, Chapter 4: Unit4A 3. 2011
9. Nishimura T, et al., Generation of rejuvenated antigen-specific T cells by reprogramming to pluripotency and redifferentiation. *Cell Stem Cell*, 12(1): 114-26. 2013
10. Vizcando R, et al., Regeneration of Human Tumor Antigen-Specific T Cells from iPSCs Derived from Mature CD8(+) T Cells. *Cell Stem Cell*, 12(1): 31-6. 2013

## 関連製品

ベクター感染の確認や、moi値の最適化に

### 蛍光マーカー搭載 SeV ベクター

#### PlasmEx®-AG(c) / -BFP(c)



Code no.	製品名	内容量	価格（税別）
DV-0003-1	PlasmEx®-AG	100 μL × 2 本 (5 × 10 <sup>6</sup> CIU 以上 / 100 μL)	¥13,000
DV-0003-2	PlasmEx®-AGc	100 μL × 2 本 (5 × 10 <sup>7</sup> CIU 以上 / 100 μL)	¥65,000
DV-0004-1	PlasmEx®-BFP	100 μL × 2 本 (5 × 10 <sup>6</sup> CIU 以上 / 100 μL)	¥12,000
DV-0004-2	PlasmEx®-BFPC	100 μL × 2 本 (5 × 10 <sup>7</sup> CIU 以上 / 100 μL)	¥60,000

DV-0003-2 および DV-0004-2 の製品名の c は高濃度品であることを示しています。

ベクターマップ情報は、ホームページまたはデータシートをご確認ください。本製品はカルタヘナ法該当品です。

#### PlasmEx®-AG/-AGc について

緑色蛍光タンパク発現用 SeV ベクター PlasmEx®-AG は、Amalgaam 社の緑色蛍光タンパクである humanized-codon monomeric Azami-Green (AG) を SeV ベクターに搭載した製品です。本製品を感染させた細胞では AG (Ex492/Em506) が発現し、GFP 用もしくは FITC 用のフィルターを搭載した蛍光顕微鏡や 488 nm レーザーを搭載したフローサイトメーターによる解析が可能です。

##### ※ 蛍光タンパク質について

アザミグリーン (Azami-Green; AG) の励起光・蛍光の情報については ホームページをご覧ください。

(<http://ruo.mbl.co.jp/product/flprotein/ag.html>)

AG は、イシサンゴに属するアザミサンゴより単離された、緑色の蛍光を発する新規蛍光蛋白質です。AG 遺伝子を導入した培養細胞において、AG は迅速に強い蛍光を発することや、その発色が pH の影響を受けにくいことが明らかにされました。

※ AG は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（宮脇敦史チームリーダー）との共同研究で開発されたものであり、MBL が実施権を有し Amalgaam にライセンスされています。

#### PlasmEx®-BFP/-BFPC について

青色蛍光タンパク発現用 SeV ベクター PlasmEx®-BFP は、Evrogen 社の青色蛍光タンパクである Tag-BFP を SeV ベクターに搭載した製品です。本製品を感染させた細胞では BFP (Ex402/Em457) が発現し、BFP 用もしくは V 励起のフィルターを搭載した蛍光顕微鏡やバイオレットレーザーを搭載したフローサイトメーターによる解析が可能です。

#### ■ プライマーセット

Code no.	製品名	内容量	価格（税別）
IDT-DV0301	iPS Transgene/SeV 検出用プライマーセット	各 1 nmole (400 PCR 反応分)	¥10,000/ セット

#### ■ 抗体製品

Code no.	製品名	免疫動物	使用法	内容量	価格（税別）
PD029	Anti-Sendai Virus pAb	Rabbit	WB/IC	50 μL	¥48,000

# 幹細胞・分化マーカー抗体おすすめ品

Code no.	製品名	免疫動物	交差動物種	使用法	価格（税別）	キーワード
PM057	Anti-KLF4 pAb	Rabbit	Hu/Mo	WB/IP/IC	¥48,000	未分化マーカー
PM055	Anti-Lin28 pAb	Rabbit	Hu/Mo	WB/IP/IC	¥48,000	未分化マーカー
PM058	Anti-Nanog pAb	Rabbit	Mo	WB/IP/IC	¥48,000	未分化マーカー
M164-3	Anti-Oct3/4 mAb	Mouse	Hu/Mo	WB/IP	¥48,000	未分化マーカー
PM048	Anti-Oct3/4 pAb	Rabbit	Hu/Mo	WB/IP/IC/IH	¥48,000	未分化マーカー
PM056	Anti-Sox2 pAb	Rabbit	Hu/Mo	WB/IP/IC/IH	¥48,000	未分化マーカー
● K0106-3	Anti-CD117 (c-Kit) mAb	Mouse	Hu	IP/FCM	¥30,000	幹細胞（血液、神経など）、癌
566	Anti-CD117 (c-Kit) pAb	Rabbit	Hu	WB/IH	¥58,000	幹細胞（血液、神経など）、癌
566-H	Anti-CD117 (c-Kit) pAb	Rabbit	Hu	IC/IH	¥32,000	幹細胞（血液、神経など）、癌
● D052-3	Anti-Sca-1 mAb	Rat	Mo	FCM	¥24,000	幹細胞、前駆細胞（心筋、血液）
D269-3	Anti-EpCAM (CD326) mAb	Rat	Mo	FCM	¥48,000	癌幹細胞、肝臓
● M084-3	Anti-Podocalyxin (PCLP1) mAb	Mouse	Hu	FCM	¥48,000	ES 細胞、癌幹細胞
● D072-3	Anti-Podocalyxin (PCLP1) mAb	Rat	Mo	FCM	¥48,000	ES 細胞、癌幹細胞
D029-3	Anti-Drebrin (Chicken) mAb	Mouse	Hu/Mo/Rat/Rab/Bov/Chi/Other	WB/IP/IC/IH	¥48,000	神経発生
D097-3	Anti-GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) mAb	Mouse	Hu	WB/IC	¥48,000	神経分化マーカー、アレキサンダー病
K0199-3	Anti-Nestin mAb	Mouse	Hu	WB/FCM/IH	¥30,000	神経幹細胞マーカー、癌
D121-3	Anti-Phosphorylated GFAP (Ser13) mAb	Mouse	Hu	WB/IC	¥48,000	神経分化マーカー、アレキサンダー病
MY-01-3	Anti-Phosphorylated GFAP (Ser8) mAb	Mouse	Hu	WB/IC	¥48,000	神経分化マーカー、アレキサンダー病
D098-3	Anti-Phosphorylated GFAP (Thr7) mAb	Rat	Hu	WB/IC/IH	¥48,000	神経分化マーカー、アレキサンダー病
RN010P	Anti-MSI1 (Musashi1) pAb	Rabbit	Hu/Mo/Rat	WB/IP/RIP	¥60,000	神経、幹細胞、癌
● D270-3	Anti-Musashi-1 (Msi1) mAb	Rat	Hu/Mo/Rat	WB/IH	¥48,000	神経、幹細胞、癌
D055-3	Anti-M6a mAb	Rat	Mo	FCM/IH	¥40,000	神経分化
D297-3	Anti-p75NTR mAb	Rat	Mo	FCM	¥48,000	神経、間葉系幹細胞
D207-3	Anti-Runx mAb	Mouse	Hu/Mo	WB	¥40,000	幹細胞分化、癌
D208-3	Anti-Runx mAb	Mouse	Hu/Mo	WB	¥40,000	幹細胞分化、癌
D130-3	Anti-Runx2 (Cbfa1) mAb	Mouse	Hu/Mo	WB/IP/IC	¥48,000	骨芽細胞分化、軟骨細胞成熟、癌
D234-3	Anti-RUNX3 mAb	Mouse	Hu/Mo	WB/IH	¥48,000	神経発生、癌
PM044	Anti-PIWIL2 (MILI) pAb	Rabbit	Mo	WB/IP	¥48,000	精子形成、生殖細胞分化、癌
PM043	Anti-PIWIL2 (MILI) pAb	Rabbit	Mo	IP/IH	¥48,000	精子形成、生殖細胞分化、癌
● D187-3	Anti-Dlk (Pref-1) mAb	Rat	Mo	FCM/IH	¥52,000	脂肪細胞分化、ES 細胞、肝臓、発生
D118-3	Anti-Liv2 mAb	Rat	Mo	FCM/IH	¥48,000	肝臓、発生
D059-3	Anti-OSMR (Oncostatin M Receptor) mAb	Rat	Mo	FCM	¥40,000	肝臓、造血
● D225-3	Anti-LYVE-1 mAb	Rat	Mo	FCM/IH	¥52,000	胚発生、リンパ管形成
D296-3	Anti-Lyve-1 mAb	Rat	Mo	FCM/IH	¥38,000	胚発生、リンパ管形成
CY-P1035	Anti-Osteopontin pAb	Rabbit	Hu	WB/IH	¥40,000	骨芽細胞分化マーカー
● K0027-3	Anti-BCRP (ABCG2) mAb	Mouse	Hu	FCM	¥30,000	造血幹細胞
D294-3	Anti-CD73 mAb	Rat	Mo	FCM	¥48,000	間葉系幹細胞
● D123-3	Anti-CD184 (CXCR4) mAb	Rat	Hu	WB/IP/FCM	¥40,000	造血幹細胞
● D140-3	Anti-CD44 mAb	Mouse	Hu	IP/FCM	¥35,000	間葉系幹細胞、癌
● D050-3	Anti-CD29 (Integrin β1) mAb	Mouse	Hu	WB/IP/FCM	¥35,000	間葉系幹細胞

● 同クローナで標識抗体（FITC、PE、ビオチンなど）の取り扱いがございます。

Hu : Human Mo : Mouse Rab : Rabbit Bov : Bovine Chi : Chicken  
WB : Western blotting IP:Immunoprecipitation FCM : Flow Cytometry IC : Immunocytochemistry IH : Immunohistochemistry RIP : RNP Immunoprecipitation



サイトチューン  
**CytoTune®-iPS**

染色体が無傷で外來遺伝子フリーの  
iPS 細胞作製用センダイウイルスベクターキット

CytoTune®-iPS およびその関連製品の詳細情報は、MBL ライフサイエンスサイトよりご覧下さい。

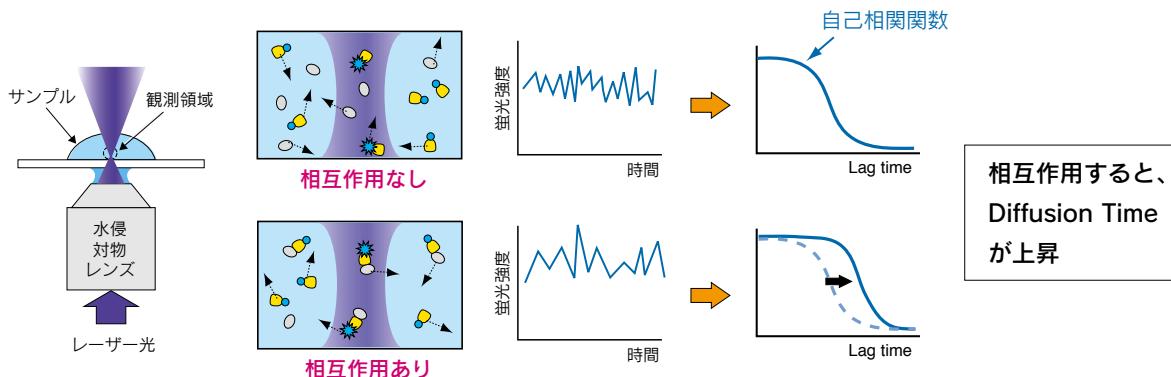
# FlucDEUX™ ~ Fluctuation Dual Emission Uni-laser eXcitation ~

- 液相中の分子間相互作用解析が可能
- FCS モード、FCCS モードの両方で解析が可能
- わずかなサンプル量で測定可能
- 実機を使ってデモを行います



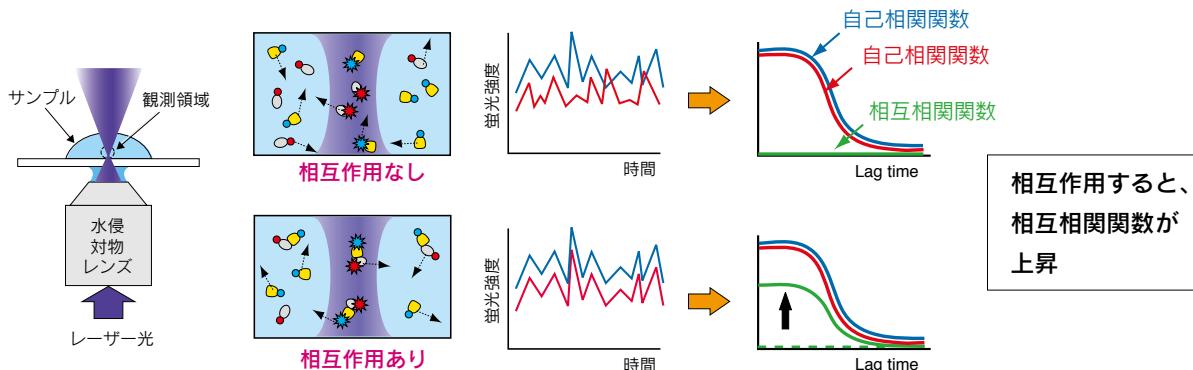
## ◆ 蛍光相関分光法 (Fluorescence Correlation Spectroscopy; FCS) とは

蛍光標識された分子のブラウン運動は、分子を非常に希薄にするとともに、観測領域を非常に小さい領域に限定することで、蛍光シグナルのゆらぎとして測定することができます。FCS法は、その蛍光シグナルのゆらぎから分子の移動速度(Diffusion Time)を測定する方法です。Diffusion Timeの変化を測定することで分子間の相互作用を検出することが可能です。



## ◆ 蛍光相互相関分光法 (Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy; FCCS) とは

FCCS 法は二種類の蛍光標識された分子を同時に FCS 測定することで、二種類の分子の時間的・空間的同時性も測定する方法です。同時性の変化を測定することで分子間相互作用を検出することが可能ですが、相互作用による Diffusion Time の変化が小さく、FCS 法では感度が得られないような標的にも適応可能です。



## ◆ 測定法のまとめ

測定法	メリット	デメリット	FlucDEUX™ で分かる事
FCS	・蛍光標識が一方のみで簡単	・相互作用する相手方が特定できない。 ・相互作用前後の分子量の変化が大きい必要がある（原理上は 8 倍以上）	・Kd 値 ・蛍光標識した分子の拡散定数 (Diffusion Time) ・一分子あたりの蛍光強度 (Counts Per Particle)
FCCS	・直接的な相互作用解析が可能 ・分子量の差は問わない	・蛍光標識を両方する必要がある	・相互作用している分子の割合 ・蛍光標識した分子の拡散定数 (Diffusion Time) ・一分子あたりの蛍光強度 (Counts Per Particle)

## ◆ FCS モードでのタンパク質間相互作用の観察報告例

名古屋大学遺伝子実験施設 学術振興会特別研究員 (RPD) 村上 恵子 先生

### ■ 解析目的

多くの生物は様々な活性を 24 時間周期で自律的に振動させています。このリズムを制御する細胞内の分子機構が『生物時計』です。藍色細菌の生物時計分子装置は KaiA、KaiB および KaiC から構成されています。これらの 3 つの Kai タンパク質が相互に作用することにより、KaiABC 分子装置は時間振動を発振することがわかっています。しかし、その詳細は不明です。そこで、KaiB-KaiC 間相互作用を FCS 測定で解析しました。

### ■ 材料と方法

野生型 KaiB (KaiB<sub>WT</sub>) と C 末端の 14 アミノ酸を欠失させた変異体 KaiB (KaiB<sub>1-94</sub>) をそれぞれ蛍光色素で化学修飾し、FlucDEUX™ を使用して KaiC との相互作用を観察しました。FCS 測定では、信号の揺らぎから標識分子が観測領域を通過する平均時間である拡散定数 (Diffusion time: DT) および 1 粒子あたりの蛍光値 (Counts per particles: CPP) を算出しました。

### ■ 結果

KaiB<sub>WT</sub> では、KaiC の添加によって DT が増加しましたが、CPP は変化が見られませんでした。一方、KaiB<sub>1-94</sub> では、DT の増加に加え CPP の増加が見られました（図 1）。これらの結果より、1 分子の KaiC (6 量体) に対して、KaiB<sub>WT</sub> (4 量体) は 1 分子、KaiB<sub>1-94</sub> (2 量体) は 2 分子が相互作用することがわかりました。

また、KaiC と複合体を形成する時計関連タンパク質 SasA が、KaiB-KaiC 間相互作用にどのように影響するかを FCS 測定によって調べました。その結果、SasA の濃度が上がるにつれて KaiB の DT が低下し、KaiB-KaiC 間相互作用が阻害されることが示されました（図 2）。

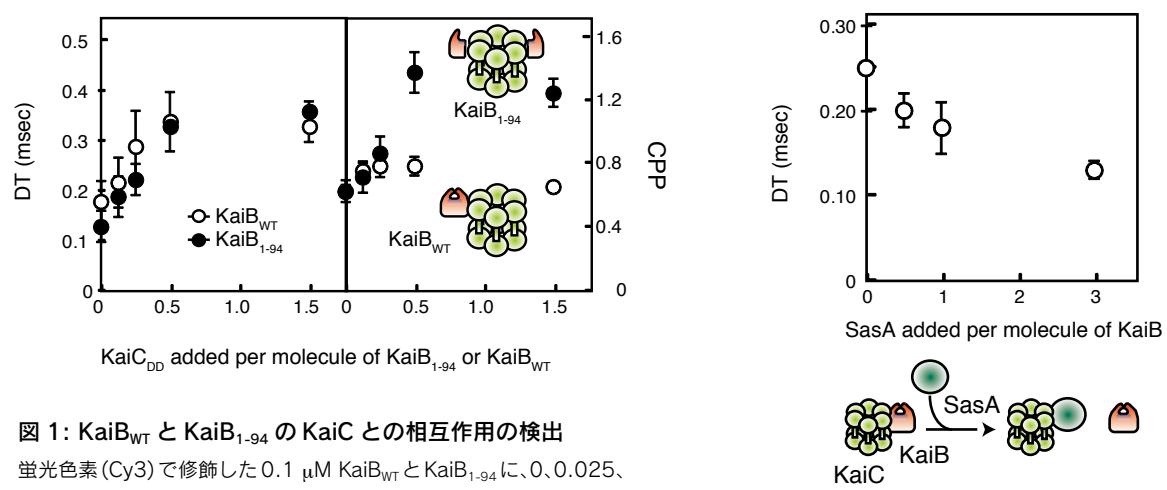


図 1: KaiB<sub>WT</sub> と KaiB<sub>1-94</sub> の KaiC との相互作用の検出

蛍光色素 (Cy3) で修飾した 0.1 μM KaiB<sub>WT</sub> と KaiB<sub>1-94</sub> に、0、0.025、0.05、0.15、0.30 μM 変異体 KaiC (KaiC<sub>DD</sub>: リン酸化状態をまねていると考えられる KaiC) を添加し、FlucDEUX™ によって相互作用を検出しました。どちらも KaiC の添加量が増えるにつれ DT が増加し、相互作用が観察されました。KaiB<sub>1-94</sub> では、KaiC の添加に伴って CPP が約 2 倍になり、KaiB-KaiC 複合体には 2 分子の KaiB<sub>1-94</sub> が含まれていることが示唆されました。

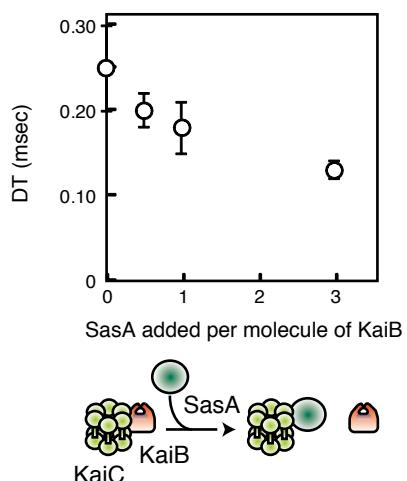


図 2: SasA による KaiB-KaiC 複合体形成の阻害

Cy3 で修飾した 0.1 μM KaiB と 0.1 μM KaiC<sub>DD</sub>、0、0.05、0.10、0.30 μM SasA を保温し、FlucDEUX™ によって相互作用を検出しました。SasA の添加量が増えるにつれ KaiB の DT が低下し、KaiB-KaiC 複合体の解離が示されました。

### ■ 考察とまとめ

FlucDEUX™ を用いた FCS 測定では、検出に必要なタンパク質濃度が低く、必要タンパク質の溶液量が少ないため、様々な条件で Kai タンパク質間相互作用を検証することができました。また、KaiB<sub>WT</sub> と KaiB<sub>1-94</sub> をそれぞれ添加した場合の CPP の変化を比較することによって、KaiC に対する両者の結合量の違いを明らかにすことができました。

今後、KaiABC 分子装置が時間振動するために、3 つの Kai タンパク質がどのように相互作用するかを解析していくたいと考えています。

### ■ 文献

Murakami R, et al., J. Biol. Chem. 287: 29506-15. 2012

\*本製品の詳細については、下記の連絡先にお問合せ下さい。

MBL 営業推進部 基礎試薬グループ E-mail : support@mbl.co.jp TEL : (052) 238-1904

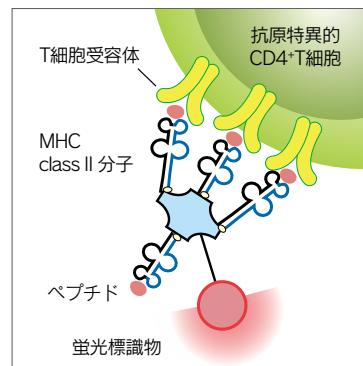
# I-A<sup>b</sup> E $\alpha_{52-68}$ Tetramer-PE

\*当試薬は米国 Beckman Coulter 社のライセンスのもとに製造販売しています。

E $\alpha_{52-68}$  peptide が I-A<sup>b</sup> に提示された複合体は、T 細胞の制御や、自己免疫疾患などへの関与が報告されています(3-5)。E $\alpha_{52-68}$  peptide の配列は人においても保存されていることから、免疫系の研究をする上で重要な標的となっています(5)。また、I-A<sup>b</sup>/E $\alpha_{52-68}$  を特異的に認識する抗体や、I-A<sup>b</sup>/E $\alpha_{52-68}$  特異的な TCR を持つトランジエニックマウスも作製されていることから(1, 2)、I-A<sup>b</sup> E $\alpha_{52-68}$  Tetramer は様々な実験系において重要なツールになることが期待されます。

1. Rudensky AY, et al., Nature 353: 660-662. 1991
2. Ignatowicz L, et al., J. Immunol. 154: 3852-3862. 1995
3. Grubin CE, et al., Immunity 7: 197-208. 1997
4. Martinez-Soria E, et al., J. Immunol. 181: 3651-3657. 2008
5. Brown NK, et al., J. Immunol. 180: 7039-7046. 2008

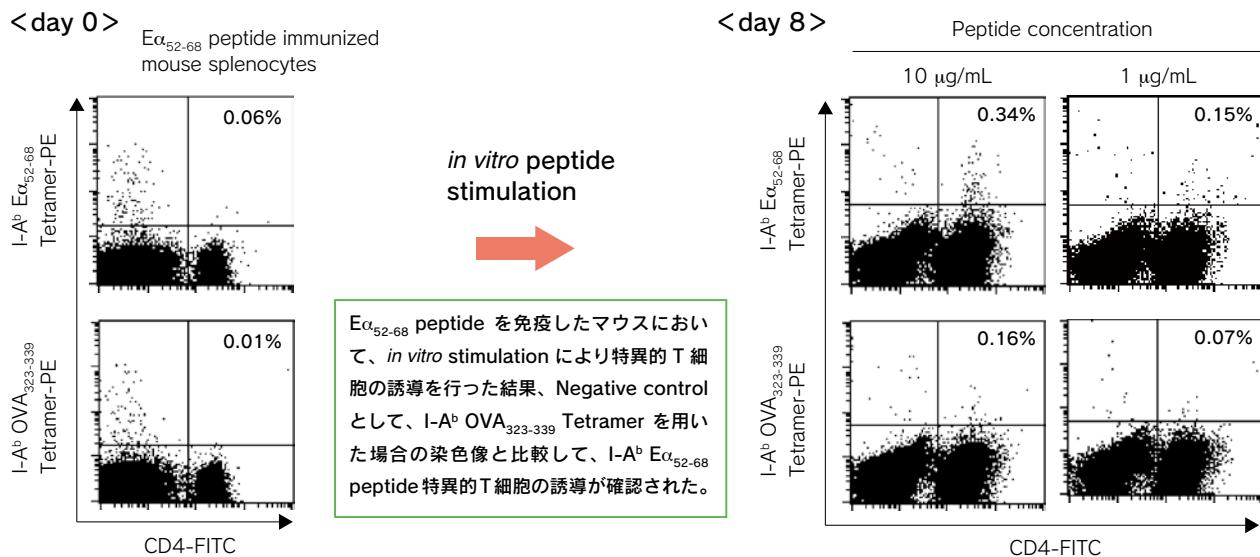
## T>Select MHC class II Tetramer



### ◆ 染色例

100 nmol の I-A<sup>b</sup> 拘束性 E $\alpha_{52-68}$  peptide、10 µg の cholera toxin (Code no. RK-01-511) を免疫賦活剤とエマルジョン化してマウスに 5 回腹腔免疫した。11 日後に脾臓を摘出して脾細胞を調整し、一部をサンプリングして MHC Tetramer 試薬を用いて染色した(day 0)。これらの脾細胞は、in vitro において I-A<sup>b</sup> E $\alpha_{52-68}$  peptide で 8 日間刺激培養した。これを同様に MHC Tetramer 試薬を用いて染色した (day 8)。

FSC/SSC 展開にて T 細胞領域かつ 7-AAD 隱性細胞領域にて解析を行った。ドットプロット展開図右上の数字は、CD4 陽性細胞中の MHC Tetramer 陽性細胞の割合を示す。



### ■ 製品情報

Code no.	製品名	内容量	価格（税別）
TS-M706-1	I-A <sup>b</sup> E $\alpha_{52-68}$ Tetramer-PE	20 tests	¥180,000
TS-M707-1	I-A <sup>b</sup> ESAT-6 <sub>1-20</sub> Tetramer-PE	20 tests	¥180,000
TS-M710-1	I-A <sup>b</sup> OVA <sub>323-339</sub> Tetramer-PE	20 tests	¥180,000
TS-M704-P	I-A <sup>b</sup> MOG <sub>35-55</sub> peptide	100 µL (10 mg/mL)	¥15,000
TS-M707-P	I-A <sup>b</sup> ESAT-6 <sub>1-20</sub> peptide	100 µL (10 mg/mL)	¥15,000
TS-M701-P	I-A <sup>b</sup> HBc helper peptide	100 µL (10 mg/mL)	¥15,000
TS-M702-P	I-A <sup>d</sup> Tetanus toxin p30 helper peptide	100 µL (10 mg/mL)	¥15,000
TS-M703-P	I-A <sup>d</sup> OVA <sub>323-339</sub> helper peptide	100 µL (10 mg/mL)	¥15,000

最新情報は Web にて公開中！！

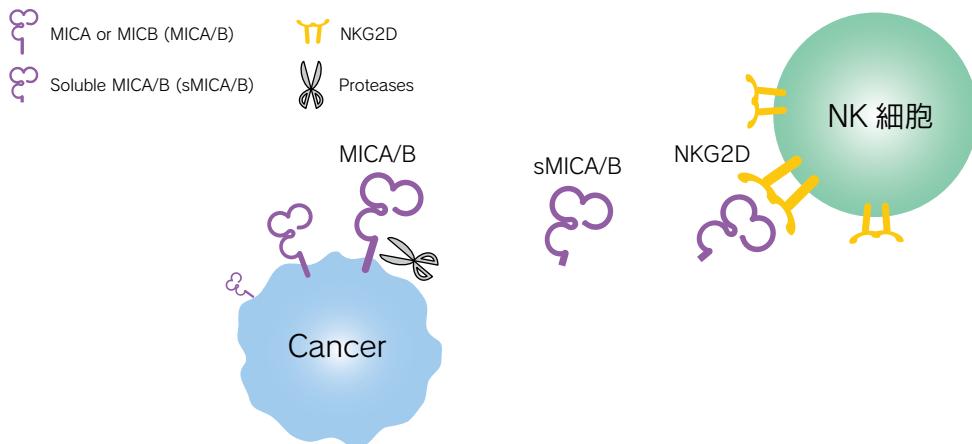
MBL ライフサイエンスサイト

検索

\*T>Select MHC Tetramer 試薬、CTL 誘導用ペプチド等の製品ラインナップ、MHC Tetramer 試薬のカスタム作製に関しては、弊社ホームページより最新情報をご確認ください。

# MICA、MICB 定量測定系

可溶性 MICA/B (sMICA/B) の血中量とがんの悪性度との関連が注目されています。  
Ab-Match キットシリーズから MICA、MICB の測定系をご紹介いたします。



MICA (MHC class I chain-related gene A)、MICB (MHC class I chain-related gene B) は、主要組織適合抗原 (MHC) に対して、非古典的な組織適合抗原と呼ばれ、がんあるいはウイルス感染に対する免疫応答に関与しています。MICA と MICB は、正常細胞にはほとんど発現していませんが、さまざまがん細胞やウイルス感染などでダメージを受けた細胞に広く存在しています。

一方、MICA/B に対する受容体として C 型レクチンドメインを細胞外にもつ II 型膜タンパク質 NKG2D (CD314) が知られ、異常細胞やがん細胞を除去する NK 細胞、NKT 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、CD8 $^{+}$  $\alpha\beta$ T 細胞に発現しています。これらの免疫担当細胞は NKG2D を介して MICA/B をリガンドとして認識し、細胞障害活性を発揮します。例えば、NK 細胞はがん細胞表面上の MICA/B を認識することで、がん細胞を攻撃するようになります。興味深いことに、ある種のがん細胞では MMP プロテアーゼなどによって MICA/B は切断されます。その結果、がん細胞表面上の MICA/B の存在量が減少するだけでなく、放出された sMICA/B は放出された細胞自身に作用し、細胞表面上から NKG2D 量を減少させる、つまりがん細胞が免疫回避の手段の一つとして MICA/B を利用していることが示唆されています。さらに、近年では血中の sMICA/B の量とがんのステージや悪性度との関連が注目されています。

## ■ 文献

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

## ■ 製品情報

Code no.	製品名	内容量	価格（税別）
5330	Ab-Match Assembly Human MICA Kit*	96 wells	¥46,000
5331	Ab-Match Assembly Human MICB Kit*	96 wells	¥46,000
5310	Ab-Match Universal Kit	96 wells	¥12,000
K0217-3	Anti-MICA (Human) mAb	100 $\mu$ g	¥30,000
K0219-3	Anti-MICA/B (Human) mAb	100 $\mu$ g	¥30,000
K0218-3	Anti-MICA/B (Human) mAb	100 $\mu$ g	¥30,000
K0220-3	Anti-MICB (Human) mAb	100 $\mu$ g	¥30,000

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

# Topics

## HIV-1 p24 抗原定量キット

### HIV-1 p24 ELISA Kit の特徴

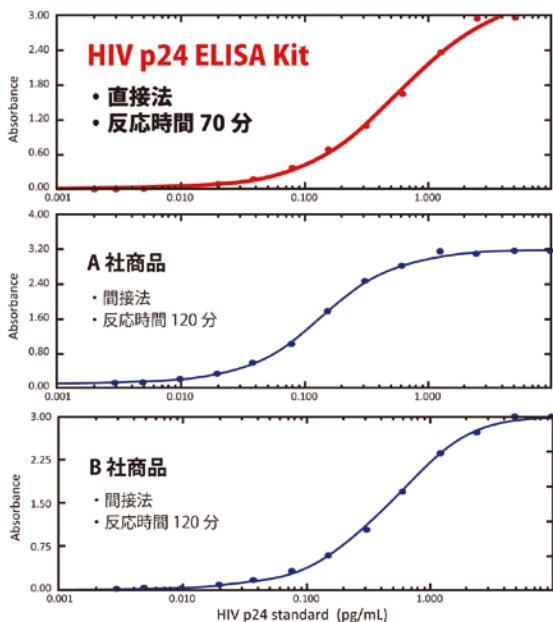
新製品！

HIV p24 ELISA Kit は、HIV-1 構成タンパクの一つである p24 抗原を定量するキットです。

- HIV-1 p24 抗原を特異的に検出
- HIV-1 p24 抗原をワンステップで定量
- 定量範囲は 5 ~ 2,000 pg/mL
- 種々の HIV-1 クレードウイルス株を検出
- 他社 ELISA キットより迅速に測定可能



### HIV-1 p24 抗原検出性能の比較



### HIV-1 p24 ELISA Kit のパネル血清反応性 (他社キットとの比較)

陽転血清パネル	初回採血日 からの経過日数	Detect p24 S/C	A 社 HIV-1 p24 test S/C	B 社 HIV-1/2 抗体検査 S/C	HIV 遺伝子検査 (コピー数 / mL)
陰性	-	0.2	nd	nd	nd
	0	0.0	0.3	0.2	BLD
	7	0.0	0.3	0.2	BLD
Panel ① (BBI BG)	9	0.2	0.3	0.2	BLD
	14	0.3	0.3	0.2	$6 \times 10^3$
	16	0.1	0.3	0.2	$5 \times 10^4$
	23	12.1	12.2	1.1	$>8 \times 10^5$
	28	27.4	22.5	9.0	$>8 \times 10^5$
Panel ② (BBI BH)	0	0.0	0.3	0.1	$2 \times 10^2$
	2	0.0	0.2	0.0	$2 \times 10^3$
	7	0.3	0.8	0.1	$2 \times 10^5$
	9	1.2	2.1	0.1	$5 \times 10^5$
	15	6.8	2.9	6.6	$4 \times 10^4$
	17	9.5	3.3	13.0	$>8 \times 10^5$

S/C = sample / cut off 値, 1.0 以上が陽性 BLD = Below Detection Limit

### ■ 製品情報

Code no.	製品名	内容量	価格（税別）
HI-E1	HIV-1 p24 ELISA Kit	96 assays	¥50,000

\* 本キットは研究用のみを目的として販売されています。医薬品、家庭用、その他研究以外の用途には使用できません。

# Topics

## ヒトフュージョンパートナー SPYMEG

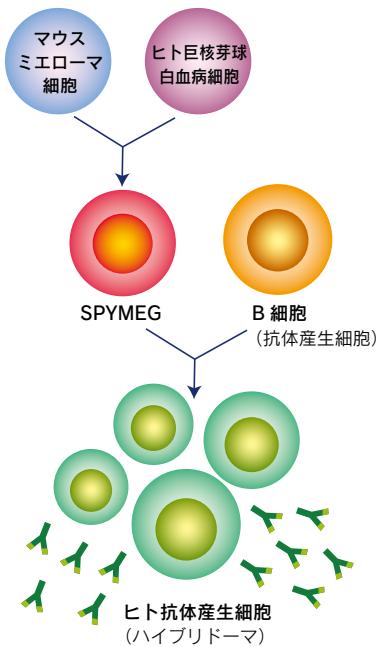
MBLは、奥羽大学 山本正雅先生と共同で、ヒトフュージョンパートナー細胞：SPYMEGを開発しました。

### ◆ 特長

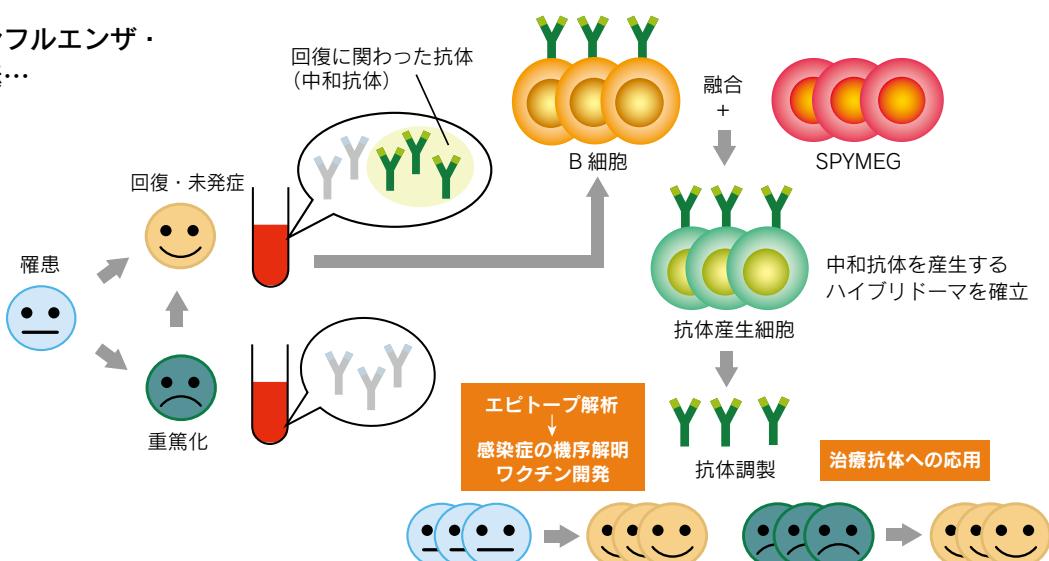
- ・報告されているフュージョンパートナー細胞と比べ、効率よくヒト抗体産生細胞を樹立できます。
- ・末梢血単核球（PBMC）と直接フュージョンして抗原特異的抗体産生細胞が得られます。
- ・ヒト体内に存在する抗体を单クローニ化できます。
- ・特別な装置や技術は必要とせず、簡便に完全ヒト抗体を取得することができます。

### ◆ 実施例

- ・インフルエンザワクチン接種者から得た末梢血単核球とSPYMEGとの融合により、ヒトのH3N2型インフルエンザウイルスに対する抗体、B型インフルエンザのYamagata株とVictoria株を広く中和する抗体が得られています。
- ・急性期のデングウイルス感染者の末梢血単核球との融合により、デングウイルスの1型～4型すべてに対して中和活性を示す抗体が得られています。



デング熱・インフルエンザ・  
ボツリヌス毒素…



ウイルス感染症に対する抗体医薬の開発や、未解明であった感染・発病のメカニズムの解明、新たな予防法や治療法開発等、研究のツールとしてご利用ください。

\* 当細胞をご利用いただくに当たり、細胞提供に関する契約書を締結させていただき、年間使用料をお支払いただきます。  
詳細はお問い合わせください。

\*SPYMEGは「融合パートナー細胞」としてPCT出願を行い、アメリカ、中国、ロシア、欧州ではすでに特許として登録されています。

# タグ融合タンパク質精製キット



## タグ融合タンパク質精製キット ~ Tagged Protein purification Kit ~

さまざまな研究分野で、活性のあるタンパク質、構造を保ったタンパク質を精製することは大変重要です。活性や構造を保つままでタンパク質を精製するためには、酸、アルカリなどの過酷な条件下ではなく、中性条件下で精製できることが理想です。Tagged Protein Purification Kit は、それぞれのタグに対して特異性が高く、最適な親和性を持った抗体を結合させたアガロースビーズが含まれています。これらを用いることにより、哺乳動物細胞などで発現させたタグ融合タンパク質をマイルドな中性条件下で簡便かつ高純度に精製することが可能です。

### 活性保持

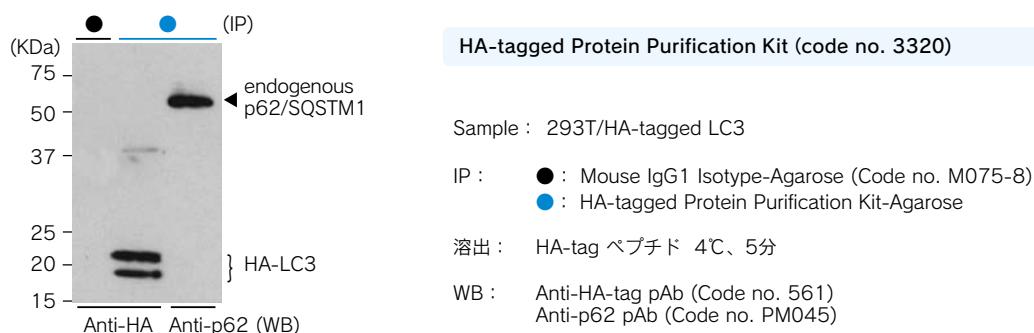
中性条件下での精製のため、活性を保持しています。プルダウンアッセイにも応用できます。

### 高純度

親和性が高く、特異性が高い抗体を使用しているため、高純度な精製が可能です。

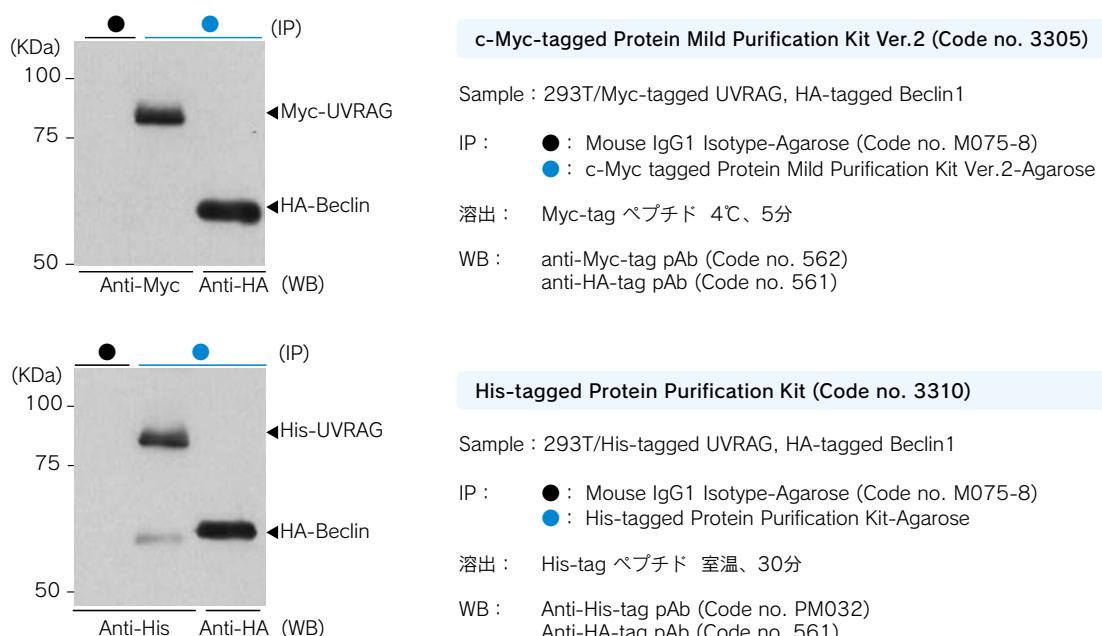
### 応用例 1：内在性タンパク質のプルダウンアッセイ

p62/SQSTM1 はオートファゴソームマークターである LC3 に直接結合し、オートファジーにより選択的に分解される事がわかっています。HA-tagged LC3 トランスフェクタントを用いて、LC3 と内在性 p62/SQSTM1 とのプルダウンアッセイを行いました。



### 応用例 2：強制発現タンパク質のプルダウンアッセイ

オートファジーに必須な Beclin1 タンパクは UVRAG や、Vps34 など多数のタンパクと相互作用し、オートファジーの調節ポイントとなっていることが示唆されています。本検討では Beclin1 と UVRAG とのプルダウンアッセイを MBL タグ融合タンパク質精製キット (c-Myc, His) を使用して行いました。(サンプルには HA tagged Beclin1/Myc- または His-tagged UVRAG トランスフェクタントを用いました。)



**NEW!**

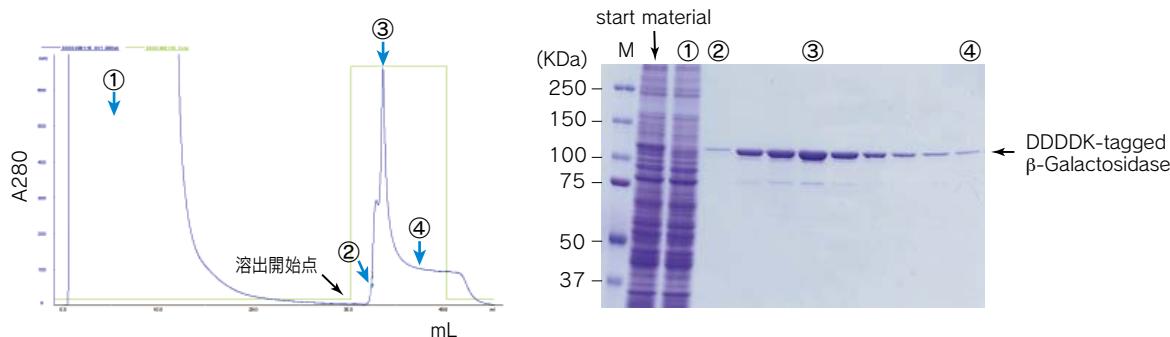
## DDDDK-tagged Protein Purification Cartridge

DDDDK-tag 抗体結合ゲルを充填したプレパックカートリッジが発売となりました。ÄKTA や FPLC 等の液体クロマトグラフィーシステムに直接接続して使用することができます。是非ご利用下さい！

\* ÄKTA は、GE Healthcare (Life Sciences) の商標です。



### ● Purification of DDDDK-tagged $\beta$ -Galactosidase using ÄKTA system



Cartridge:	DDDDK-tagged Protein Purification Cartridge
Sample:	DDDDK-tagged $\beta$ -Galactosidase/293T cell lysate ( $1 \times 10^8$ cells)
Cell lysis buffer:	10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1% NP-40, pH7.5
Wash buffer:	10 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl, pH7.5
Elution buffer:	0.1 mg/ml DYKDDDDK peptide in PBS
Flow rate:	1.0 mL/min (0.5 mL/min for elution)

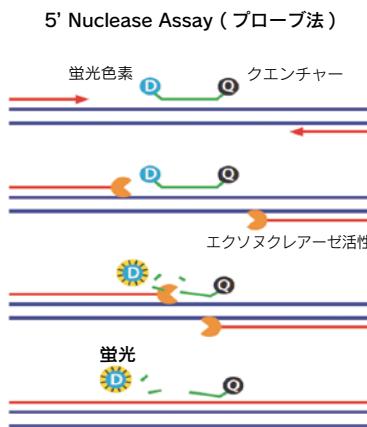
### ■ 製品情報

Code no.	製品名	内容量	価格(税別)
3325	DDDDK-tagged Protein Purification Kit	20 tests	¥65,000
3325A	DDDDK-tagged Protein Purification Kit (Trial Kit)	2 tests	¥9,800
3326	DDDDK-tagged Protein Purification Gel with Elution Peptide	Gel 1 mL, peptide 5 mg	¥52,000
3327	DDDDK-tagged Protein Purification Gel with Elution Peptide	Gel 5 mL, peptide 25 mg	¥112,000
3326K	DDDDK-tagged Protein Purification Cartridge	1 mL x 1	¥68,000
3328	DDDDK-tagged Protein Purification Gel	Gel 5 mL	¥95,000
3329	DDDDK-tagged Protein Purification Gel	Gel 25 mL (5 mL x 5)	¥280,000
3325-205	DDDDK-tag peptide (DYKDDDDK)	1 mg x 5	¥18,000
3305	c-Myc-tagged Protein Mild Purification Kit Ver.2	20 tests	¥75,000
3305A	c-Myc-tagged Protein Mild Purification Kit Ver.2 (Trial Kit)	2 tests	¥9,800
3306	c-Myc-tagged Protein Mild Purification Gel	Gel 1 mL, peptide 1 mg	¥98,000
3307	c-Myc-tagged Protein Mild Purification Gel	Gel 1 mL x 5, peptide 1 mg x 5	¥248,000
3300-205	c-Myc-tag peptide (EQKLISEEDL)	1 mg x 5	¥40,000
3310	His-tagged Protein Purification Kit	20 tests	¥75,000
3310A	His-tagged Protein Purification Kit (Trial Kit)	2 tests	¥9,800
3311	His-tagged Protein Purification Gel	Gel 1 mL x 1, peptide 2 mg x 5	¥98,000
3312	His-tagged Protein Purification Gel	Gel 1 mL x 5, peptide 2 mg x 25	¥248,000
3310-205	His-tag peptide	2 mg x 5	¥20,000
3315	V5-tagged Protein Purification Kit	20 tests	¥75,000
3315A	V5-tagged Protein Purification Kit (Trial Kit)	2 tests	¥9,800
3320	HA-tagged Protein Purification Kit	20 tests	¥75,000
3320A	HA-tagged Protein Purification Kit (Trial Kit)	2 tests	¥9,800
3321	HA-tagged Protein Purification Gel	Gel 1 mL	¥83,000
3320-205	HA-tag peptide	2 mg x 5	¥20,000

NEW

# PrimeTime 定量 PCR 用オリゴ合成サービス

- ◎ 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 qPCR Assay ( プライマー、プローブセット ) ¥12,000
  - ・ PrimeTime qPCR Probe ( プローブを配列で発注 ) ¥10,000
  - ・ 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！ (ヒト、マウス、ラット)。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。
- ◎ バックグラウンドの低いダブルクエンチャー (ZEN/IowaBlack) です。
- ◎ プローブ設計相談も対応します。



## ◆ 価格情報（税別）

### 1) PrimeTime qPCR Assay (Primer2本+Probe1本)

5'Dye	3'Quencher	合成スケール		
		Mini	Standard	XL
FAM	ZEN/IBHQ	¥12,000	¥18,000	¥54,000
	TAMRA		¥23,000	¥62,000
TET	ZEN/IBHQ		¥23,000	¥62,000
	HEX	ZEN/IBHQ		¥62,000
Cy5	IBHQ		¥23,000	¥62,000
Probe 収量	0.5 nmole	2.5 nmole	12.5 nmole	
Primer 収量	1 nmole	5.0 nmole	25.0 nmole	
反応回数 (20 μL 反応系)	100 回	500 回	2500 回	

- ・ Primer の量は、Standard の場合 2.5 ~ 10 nmol の範囲で、XL の場合 12.5 ~ 50 nmole の範囲で指定可能です。
- ・ Probe の長さは、15 ~ 35 bases です。それ以外の長さは、お問合せ下さい。
- ・ Primer は脱塩グレード、Probe は HPLC 精製グレードです。
- ・ 納期予定は、通常 5 ~ 10 営業日です。

### 2) PrimeTime qPCR Probe (Probeのみ納品)

5'Dye	3'Quencher	合成スケール			
		Mini	100 nmole	250 nmole	1 μmole
FAM	ZEN/IBHQ	¥10,000	¥30,000	¥42,000	¥64,000
	IBHQ	¥10,000	¥26,000	¥37,000	¥55,000
	TAMRA		¥30,000	¥42,000	¥64,000
	BHQ1 or 2		¥30,000	¥42,000	¥64,000
TET	ZEN/IBHQ		¥38,000	¥54,000	¥80,000
	IBHQ		¥32,000	¥46,000	¥69,000
	BHQ1 or 2		¥38,000	¥54,000	¥80,000
HEX	ZEN/IBHQ		¥38,000	¥54,000	¥80,000
	IBHQ		¥32,000	¥46,000	¥69,000
	BHQ1 or 2		¥38,000	¥54,000	¥80,000
保証収量		0.5 nmole	10 nmole	25 nmole	50 nmole
反応回数 (20 μL 反応系)		100 回以上	2,000 回以上	5,000 回以上	10,000 回以上

- ・ Probe の長さは、15 ~ 35 bases です。それ以外の長さは、お問合せ下さい。
- ・ Probe は HPLC 精製グレードです。・ 納期予定は、通常 5 ~ 10 営業日です。
- ・ FAM, TET, HEX 以外の蛍光色素の Probe については、お問合せ下さい。

## ◆ 発注方法

以下の 3 つの方法のいずれかで発注可能です。[oligo@mbl.co.jp](mailto:oligo@mbl.co.jp) へお問合せ下さい。

1) qPCR Assay (ヒト、マウス、ラット): ターゲット遺伝子の RefSeq データベース番号 (Accession 番号) をお知らせください。

IDT 社のプレデザイン版の推奨セットを提案します。(Primer と Probe の具体的な配列は、納品時にお知らせします。)

2) qPCR Assay (ヒト、マウス、ラット以外): Primer と Probe の具体的な配列情報をお知らせ下さい。

3) qPCR Probe: Probe の具体的な配列情報をお知らせ下さい。

## ◆ 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_01081113	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.g
NM_026020	Rplp2	Mm.PT.39a.3
NM_013684	Tbp	Mm.PT.39a.22214839
NM_011638	Tfrc	Mm.PT.39a.22214833.g
NM_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

# Topics

PCR Biosystems社商品  
取扱いを開始しました！



## リアルタイムPCR用マスターミックス

評価用小包装サンプル提供可能♪ 詳細はお問い合わせ下さい。  
(サンプル提供は予告なく終了する場合があります。)

### ～インターラーカレーターアッセイ 2-Step 法～

Code no.	製品名	包装	通常価格（税別）
PB20-11-01	qPCRBIO SyGreen Mix Lo-ROX	100 回用 / 20 μL 反応	¥10,000
PB20-11-05	qPCRBIO SyGreen Mix Lo-ROX	500 回用 / 20 μL 反応	¥48,000
PB20-12-01	qPCRBIO SyGreen Mix Hi-ROX	100 回用 / 20 μL 反応	¥10,000
PB20-12-05	qPCRBIO SyGreen Mix Hi-ROX	500 回用 / 20 μL 反応	¥48,000

### ◆ PCR を阻害しない独自の色素 SyGreen を採用

従来の色素で見られた PCR の阻害を起こさない色素です。さらに色素の蛍光特性は SYBR® Green I とほぼ同じですので、SYBR® Green I 使用の製品と同じフィルターと設定でアッセイ可能です。

### ～プローブアッセイ 2-Step 法～

Code no.	製品名	包装	通常価格（税別）
PB20-21-01	qPCRBIO Probe Mix Lo-ROX	100 回用 / 20 μL 反応	¥10,000
PB20-21-05	qPCRBIO Probe Mix Lo-ROX	500 回用 / 20 μL 反応	¥48,000
PB20-22-01	qPCRBIO Probe Mix Hi-ROX	100 回用 / 20 μL 反応	¥10,000
PB20-22-05	qPCRBIO Probe Mix Hi-ROX	500 回用 / 20 μL 反応	¥48,000
PB20-23-01	qPCRBIO Probe Mix No-ROX	100 回用 / 20 μL 反応	¥10,000
PB20-23-05	qPCRBIO Probe Mix No-ROX	500 回用 / 20 μL 反応	¥48,000

\* ROX リファレンスダイ…ウェル間の蛍光のばらつきを補正し、標準化するための色素です。

ご使用のリアルタイム PCR プラットフォームに応じて、Lo-ROX 品、Hi-ROX 品、No-ROX 品からお選びいただけます。

### ■ 対応機種

メーカー	機器	No-ROX	Lo-ROX	Hi-ROX
Analytica Jena	qTower	○	○	○
Applied Biosystems	7500, 7500 FAST, ViiA7™	○	○	×
Applied Biosystems	7000, 7300, 7700, 7900, 7900HT, 7900HT FAST, StepOne™, StepOne™ Plus	×	×	○
Bio-Rad®	iCycler®, MyiQ®, iQ™5, Opticon™, Opticon™2, Chromo4™, MiniOpticon™, CFX96™, CFX384™	○	○	×
Bio-Rad®	CFX Connect™	○	○	○
Cepheid®	Smartcycler®	○	○	○
Eppendorf	Mastercycler® ep realplex, Mastercycler® realplex 2S	○	○	○
Illumina®	Eco™	○	○	○
Qiagen/Corbett	Rotor-Gene™ 3000, 6000, Q	○	○	○
Roche Applied Science	Lightcycler® 480, Lightcycler® Nano	○	○	○
Stratagene (Agilent)	MX 4000P®, MX 3000P®, MX 3005P®	○	○	×
Takara	Cycler Dice®	○	○	○
Techne	Quantica®	○	○	○

# 次世代シーケンス用オリゴ合成サービス

## ◆ マルチプレックス解析用アダプターオリゴ

Roche 社のプラットフォームで、12 種類以上のサンプルを同時測定するマルチプレックス解析に使用するアダプターをご提供します。No.013 ~ No.132 の 120 種類までご提供可能です。Roche 社推奨の品質でお届けします。推奨は HPLC 精製グレードです。

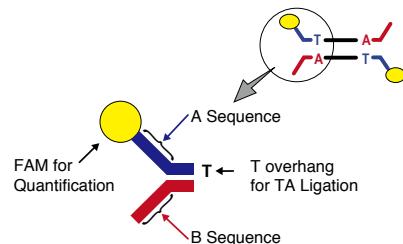
### ■ 価格情報（税別）

精製グレード	Adaptor A	Adaptor B	保証収量	納期予定
HPLC 精製	¥22,000	¥19,000	1 O.D.	約 2 週間
脱塩グレード	¥16,000	¥13,000	6 O.D.	約 2 週間

例：36 種類のアダプターを HPLC 精製グレードで購入の場合、

(22,000 円 + 19,000 円) × 36 種類 = 1,476,000 円（税別）

Titanium Rapid Library Adaptors with Extended MID



### 具体的な DNA 配列（例：RL013 の配列の場合）

下線部分が RL013 に特有の配列で、それ以外の部分は MID Adaptor の共通配列です。\* は phosphorothioate bond です。

No.013 ~ No.132 まで全 120 種類あります。

- RL013 Adaptor A /56-FAM/C\*C\*A\*T\*CTCATCCCTGCGTGTCCGACGACTAGACTCG\*A\*C\*G\*T
- RL013 Adaptor B /5Phos/C\*G\*T\*C\*GIGCTCTGTCGICGTCTCAAGGCACACAGGGGA\*T\*A\*G\*G

### 次世代シーケンサーのプラットフォームで用いるカスタム DNA オリゴ

具体的な配列をご提示いただけましたら、IDT のカスタム DNA 合成サービスにより、高品質のカスタム DNA オリゴとしてご提供可能です。  
[oligo@mbl.co.jp](mailto:oligo@mbl.co.jp) へお問合せください。

## ◆ xGen Lockdown™ Probes (Custom Enrichment Panels for Target Capture)

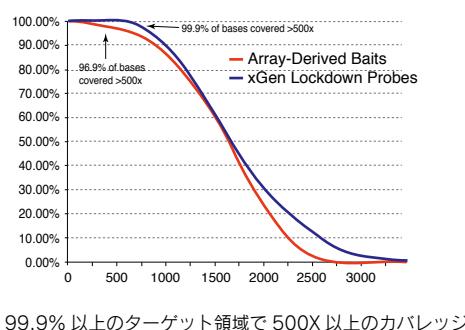
xGen Lockdown™ Probes は、次世代シーケンスのターゲットエンリッチメント用およびカスタムパネル作製用の DNA プローブです。ユーザーがシーケンス解析したい領域を自由に選ぶこと、また領域を追加拡張していくことができます。アレイを用いる方法と比べフレキシブルな、コストおよび拡張性に優れた手法です。

高い合成効率を誇る特別なカスタム DNA オリゴ、Utramer® を 5'Biotin 標識したプローブです。すべてのプローブは個別に質量分析による品質チェック済みです。

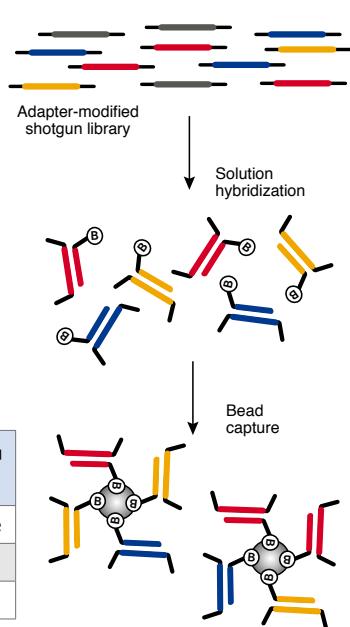
### 製品の利点

- ・質量分析による品質チェック済みの高品質の 5'Biotin 標識 DNA プローブ
- ・発注後の納期予定は約 3 週間
- ・最大 2,000 本のプローブを 1 本のチューブにプールし使用可能
- ・Mini 合成スケール (2 pmole/probe) で試行し、その後に大きなスケールに移行可能

### 高いカバレッジを達成



### Hybrid Capture 模式図



### ■ 価格情報（税別）

合成スケール	価格（税別）/probe	納品量/probe	最小発注必要数	納品時チューブ	プレート納品可否
Mini	¥2,400	2 pmole	200 probes	2 mL Tube	Not Available
Standard	¥4,000	20 pmole	96 probes	4.5 mL Tube	Available
XL	¥5,600	200 pmole	96 probes	10 mL Tube	Available

# Topics

## CircuLex UCHL1 ELISA Kit

UCHL1 (Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1) は、PARK5 もしくは PGP9.5 (神経細胞特異的タンパク質遺伝子産物 9.5) とも呼ばれる、ユビキチン C 末端加水分解酵素で、ユビキチン依存性のシグナル伝達経路を調節する因子です。

### UCHL1 が関連する様々な生命現象

#### パーキンソン病

UCHL1は家族性パーキンソン病の原因遺伝子 Park5とも呼ばれ、変異型 (I93M) はパーキンソン病を発症する1家系に見出されました。一方、UCHL1の遺伝子多型の1つ (S18Y) はパーキンソン病発症のリスク低減に関与していることが報告されています。

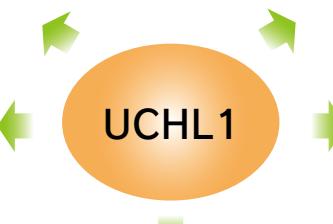
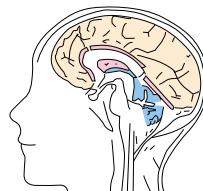
#### がん

UCHL1は、p53を安定化させることによって、G0/G1期で細胞周期を停止させ、アポトーシスを誘導させることができます。また、多くのがん細胞株では、UCHL1のプロモーターがメチル化によってサイレンシングされています。



#### 脳挫傷・虚血性脳卒中

脳の総可溶性タンパク質の1~2%が UCHL1で、中枢神経系に豊富に存在することから、脳挫傷および虚血性脳卒中のバイオマーカー候補として注目されています。



#### アルツハイマー

アルツハイマー患者のレビー小体には、ユビキチンと共に、UCHL1が蓄積されていることが報告されています。

#### 学習と記憶

UCHL1遺伝子内欠損マウスは神経学的欠損の表現型を示すことが報告されています。



UCHL1は主にニューロンにおいて発現しており(1)、その発現量は脳の総可溶性タンパク質の1~2%に達しています(2)。また、精巣と卵巣にも強く発現しています。生体内では、ユビキチン蓄積量、癌抑制 (アポトーシス誘導)、学習と記憶の制御に関与することが報告されており、自然発生的 UCHL1 遺伝子内欠損マウスは神経学的欠陥を呈する表現型を示すことが報告されています(3)。ドイツのパーキンソン病家系において発見された UCHL1 の点変異 (I93M) は、UCHL1 活性部位近傍の点変異で、そのチオエステラーゼ活性の部分的な喪失を引き起こし、常染色体優性遺伝パーキンソン病を発症するリスクの増大と関連していることも報告されております(4)。

UCHL1は、中枢神経系に豊富に存在することから、脳損傷および虚血性脳卒中のバイオマーカー候補として現在、とても注目を集めています。UCHL1は損傷ニューロンから放出され、脳脊髄液中へ入り、最終的に循環血液中に流れ込むことが証明されております(5)。

### ■ 製品情報

Code no.	製品名	内容量	測定可能サンプル	価格（税別）
CY-8092	CircuLex Human UCHL1 ELISA Kit	96 assays	細胞抽出液、培養上清など	¥98,000
CY-8093	CircuLex Mouse UCHL1 ELISA Kit	96 assays	細胞抽出液、培養上清など	¥98,000

### ■ 文献情報

- Osaka H, Wang YL, et al., Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron. Hum. Mol. Genet. 12: 1945-58. 2003
- Wilkinson K D, et al., The neuron-specific protein PGP 9.5 is a ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase. Science 246: 670-672. 1989
- Saigoh K, Wang YL, et al., Intragenic deletion in the gene encoding ubiquitin carboxy-terminal hydrolase in gad mice. Nat. Genet. 23: 47-51. 1999
- Leroy E, Boyer R, et al., The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. Nature 395: 451-452. 1998
- Papa L, Akinyi L, et al., Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. Crit. Care. Med. 38: 138-44. 2010

# 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！



## ■ MBL 公式facebookページ開設！

MBLでは、公式facebookページを開設しました。お得なキャンペーン情報や各種セミナー情報を随時お届けしています。

毎月発行しておりますメールマガジン「MBL基礎研究用試薬情報サービス」の内容もご覧いただけます！



是非、いいね！を  
クリックしてください。

## ■ 学会情報

- 次世代医薬「核酸医薬」創出に向けたStrategy（2013年4月26日、品川コクヨホール）：出展
- Next-Generation Therapeutic Antibodies Technologies and Development Strategies（2013年5月17日、品川コクヨホール）：出展
- 第7回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
- 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-GALLER NEXT 1,2）：セミナー&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