

One Step qPCR Kit

## RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix

NEW

1酵素・1ステップ系による迅速・高性能リアルタイムPCR用試薬です。

RNA-direct™ Realtime PCR Master Mixは、Tth DNA polymeraseがMn<sup>2+</sup>存在下において強い逆転写活性を示すことを利用した、単一酵素系によるワンステップリアルタイムPCR用2×マスターミックスです。逆転写反応とPCRとを同一の反応系で連続的に行うため、試薬の分注操作が1回で済み、ハイスループット化に適しています。TaqMan®アッセイ・ローブアッセイ用、及びSYBR® Green用キットから選択いただけます。

### 一口メモ

Tth DNA polymeraseは好熱細菌： *Thermus Thermophilus* から分離されたpol I型DNA polymeraseです。Mnイオン存在下で、逆転写活性を示すユニークな性質を有しています。

(参考文献)

*Biochemistry*, 30, : 7661-7666 (1991)

※本酵素の基本特許は弊社が有しています。

### 特長1 ▶ 高性能かつハイスループット

- ・逆転写反応とPCRとを同一の反応系で連続的に行う『1酵素・1ステップ系』であり、RTaseとTaqを用いた『2酵素1ステップ』系などに比べ、効果的にハイスループット実験を構築することができます。さらに、酵素反応条件を最適化することにより、飛躍的な性能の向上を実現しています。

※1ステップ系における逆転写反応にはPCR用のリバースプライマーを使用します。

### 特長2 ▶ 難しい配列にも対応

- ・逆転写反応を高温で実施できるため、立体構造をとりやすい鋳型RNAの検出に適しています。また本酵素はGC-richな鋳型の増幅に有効であることが知られています。

### 特長3 ▶ 高い特異性

- ・抗体を用いたホットスタートシステムを採用しており、非特異反応を抑制します。本システムでの酵素の再活性化は短時間で完了するため、鋳型RNAや酵素への高温によるダメージを最小限に抑えられます。

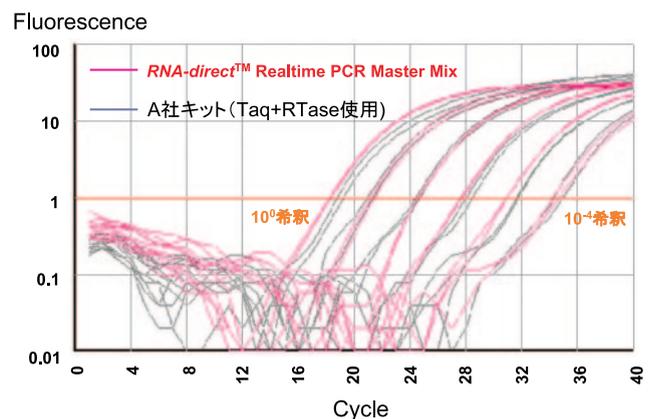
### 特長4 ▶ 様々な装置に対応

- ・汎用PCRチューブ（プレート）、およびガラスキャピラリーを用いるタイプのリアルタイムPCR機器に対応します。また、本試薬はバシプリファレンス色素が混合されており、蛍光色素での補正が必要な機器へも対応いたします。

### 実施例1 ▶ TaqMan®アッセイによる他社品との性能比較（装置：BioFlux社 Line Gene使用）

#### RNA-direct™ VS 2酵素・1ステップ

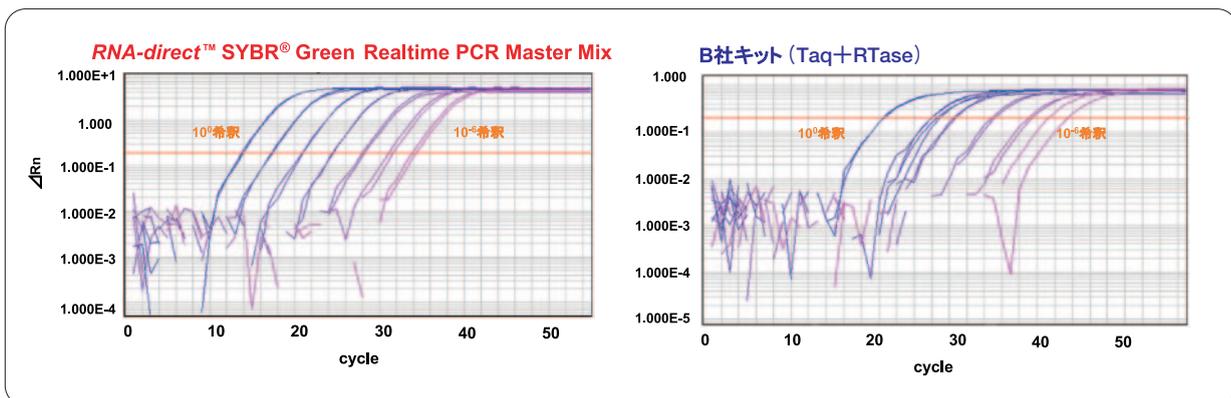
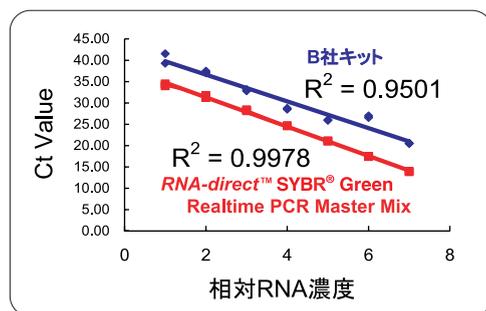
ヒト培養細胞由来mRNA（10<sup>n</sup>倍希釈系列（n=2））を鋳型とし、TaqMan®アッセイによるβアクトチンmRNAの検出を行いました（10<sup>0</sup>希釈の反応液20μlに5ngのPoly(A)<sup>+</sup> RNAが含まれるように希釈）。Taq+RTase混合型であるA社試薬と比較して、RNA-direct™ Realtime PCR Master Mixによる反応では、A社試薬推奨の反応条件においても、立ち上がりの早さと直線性において優れた結果を示しました。



**実施例2 SYBR® Greenアッセイによる直線性検討** (装置：ABI社 PRISM® 7900HT使用)

**RNA-direct™ VS 2酵素・1ステップ**

HeLa細胞由来のTotal RNA (10<sup>0</sup>倍希釈系列 (n=2)) を鋳型とし、SYBR® GreenアッセイによるβアクチンmRNAの検出を行いました (10<sup>0</sup>希釈の反応液20μlに75ngのTotal RNAが含まれるように希釈)。その結果、Taq+RTase混合型であるB社キットと比較して、RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixによる反応では、少なくとも7オーダーの希釈系列において、高い相関性を示しました。

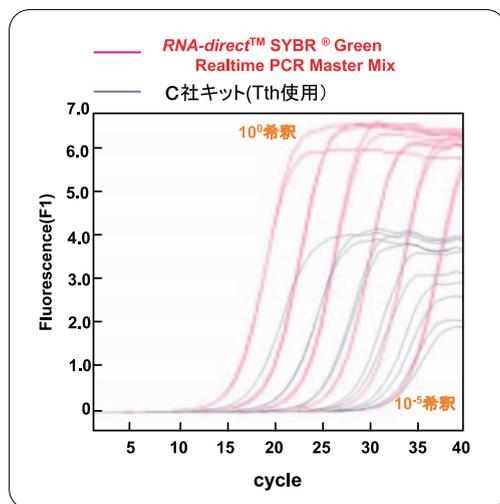


**実施例3 SYBR® Greenアッセイによる他社品との性能比較** (装置：Roche社 LightCycler™使用)

**RNA-direct™ VS 1酵素・1ステップ**

ヒト培養細胞由来Poly (A)<sup>+</sup> RNA (10<sup>0</sup>倍希釈系列 (n=2)) を鋳型とし、SYBR® GreenアッセイによりG3PDH mRNAの検出を行いました (10<sup>0</sup>希釈の反応液20μlに5ngのPoly (A)<sup>+</sup> RNAが含まれるように希釈)。

その結果、同じくTth DNA Polymeraseを使用したC社試薬と比較して、RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixによる検出では、立ち上がりの早さ、シグナルの強度、及び低濃度の鋳型に対する検出感度、何れにおいても大きく上回る性能を示しました。



| 品名   | 包装*                               | 保存温度 | Code No.            | 価格**               |
|--|-----------------------------------|------|---------------------|--------------------|
| One-step qPCR Kit (TaqMan® アッセイ・プローブアッセイ用)<br><b>RNA-direct™ Realtime PCR Master Mix</b>       | 40回用 (0.5ml×2)<br>100回用 (0.5ml×5) | -20℃ | QRT-101T<br>QRT-101 | ¥17,000<br>¥33,000 |
| One-step qPCR Kit (SYBR® Greenアッセイ用)<br><b>RNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix</b> | 40回用 (0.5ml×2)<br>100回用 (0.5ml×5) | -20℃ | QRT-201T<br>QRT-201 | ¥17,000<br>¥33,000 |

\*1反応50μlとした場合の使用回数を記載しています。  
 \*\*QRT-101もしくはQRT-201を5本セットでお買い上げの場合、¥150,000となります。  
 ※RNA-direct™ Realtime PCR Master MixおよびRNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixには、Passive Reference色素があらかじめ混合されています。プレートタイプのPCR機器にそのままご使用いただけますが、Passive Reference色素を使用しないPCR機器への影響もありません。  
 ※RNA-direct™ Realtime PCR Master MixおよびRNA-direct™ SYBR® Green Realtime PCR Master Mixには、必要量の酢酸マンガンを別チューブで添付されます。  
 ※PCR (Polymerase Chain Reaction) は、F. Hoffman-La Roche社が米国特許 (特許番号4,683,195および4,683,202) を有しています。PCRの実施に当たっては許可が必要となります。本品はF. Hoffman-La Roche社が有するPCRに関する特許の使用許可を示唆するものではありません。  
 ※LightCycler™は、Idaho Technology Inc.並びにRoche Molecular Systems Inc.の商標です。  
 ※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。  
 ※ABI PRISM®は、The Perkin-Elmer Corporationの登録商標です。

## SYBR® Green Realtime PCR Master Mix

## SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-

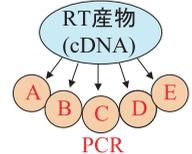
NEW

SYBR® Green リアルタイムPCR用試薬に新たなるラインアップの登場です。

SYBR® Green Realtime PCR Master MixシリーズはTaq DNA polymeraseをベースとして開発した、SYBR® Green Iを含む汎用性の高いリアルタイムPCR用2×マスターミックスです。この度、バッファー組成を最適化することにより、リアルタイムPCRのリアイビリティ（信頼性）をより向上させることに成功いたしました。

### 一口メモ

2酵素・2ステップ系の良さは、RT産物(cDNA)を小分けして、一度に様々なターゲットのリアルタイムPCRに用いることができる点です。



### 特長1 高い特異性

- ・非特異反応を抑えるため、抗Taq抗体を採用しております。
- ・化学修飾法に比べTaq DNA polymeraseが迅速に再活性化するため、アッセイ時間の短縮が可能です。

### 特長2 広い汎用性

- ・パッシブリファレンスを含有していますので、ABI PRISM®シリーズ（Applied Biosystems社）等にも対応可能です。
- ・BSAを含有していますので、ガラスキャピラリーを用いるLightCycler™（Roche Diagnostics社）等にも対応可能です。

### 特長3 1 step RT-PCRに対応 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix

- ・逆転写酵素（ReverTra Ace®, Code No.:TRT-101）とRNase inhibitor（Code No.:SIN-101）の組み合わせにより、1 step RT-PCRを行うことができます。（⇒UPLOAD Vol.83 p.15・16参照）

### 特長4 高いリアイビリティ SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-

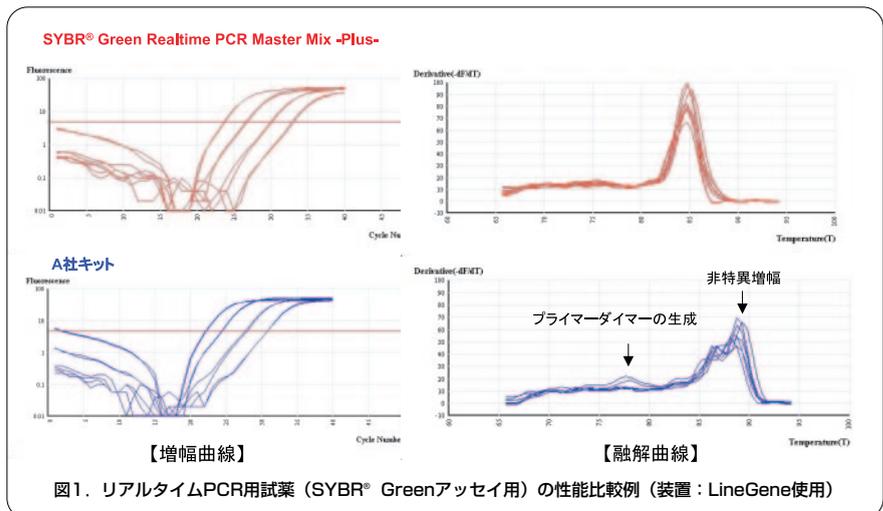
NEW

- ・バッファー組成を最適化することにより、プライマーダイマーなどの非特異反応を低減させることに成功しました。PCR反応の特異性と再現性が向上したため、より信頼性の高いリアルタイムPCR解析が可能となりました。

※逆転写反応には、1stストランドcDNA合成キット『ReverTra Ace-α®』をお薦めします。

### 実施例1 SYBR® Greenアッセイによる他社品との性能比較（装置：BioFlux社 LineGene使用）

げっ歯類由来ゲノムDNA（10<sup>6</sup>倍希釈系列、10ng、1ng、0.1ng、0.01ng（n=2））を鋳型とし、SYBR®Greenアッセイによるターゲット遺伝子（約80bp）の検出を行いました。その結果、A社試薬では、非特異的増幅、及びプライマーダイマーの生成が認められましたが、SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-では、良好な増幅が確認できました。また、Ct値の間隔も、等間隔であり、測定可能範囲も広い傾向が認められました。



| 品名   | 包装*            | 保存温度 | Code No. | 価格      |
|--|----------------|------|----------|---------|
| SYBR® Green Realtime PCR Master Mix        | 200回用 (1ml×5本) | -20℃ | QPK-201  | ¥37,000 |
|  | 40回用 (1ml×1本)  |      | QPK-201T | ¥10,000 |
| SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus- | 200回用 (1ml×5本) | -20℃ | QPK-211  | ¥37,000 |
|  | 40回用 (1ml×1本)  |      | QPK-211T | ¥10,000 |

\*本製品は2倍濃度に調製されています。上記回数は50μL反応系での回数です。装置などによって推奨容量は異なります。

NEW

一口メモ

●主な仕様

核酸増幅リアルタイムモニタリング装置「LineGene」はこんな装置です。(⇒詳細は総合カタログ 8-5・6をご参照ください)

|   |  |
|---|--|
| サンプル容量: 0.2ml×33本                         | 温度精度(設定温度): ≤±0.5℃(95℃) ≤±0.3℃(72℃) ≤±0.2℃(55℃)  |
| 励起波長: 470nm                               | 温度均一性(設定温度): ≤±1.0℃(95℃) ≤±0.5℃(72℃) ≤±0.3℃(55℃) |
| 検出波長: 530nm 640nm 710nm                   | 電源: 100V 50/60Hz                                 |
| 励起光源: Blue LED                            | 最大消費電力: 1000W                                    |
| 蛍光検出器: フォトマルチプライヤーチューブ (PMT)              | 外形寸法: W514×D456×H292 (mm)                        |
| 温度制御範囲: 30℃~99℃                           | 重量: 23kg   |
| 温度変化率: 最大4℃/sec<br>(2ステップ、45サイクルの反応=約90分) | ※製品の性能および仕様、外観は改良のため予告なく変更することがある。               |



¥1,890,000  
(本体+ソフトウェア)

販売中止

訪問デモ実施中

# Realtime PCR Master Mix

**TaqMan®アッセイ・プローブアッセイを用いるリアルタイムPCRに最適。汎用性の高いスタンダードタイプ。**

Realtime PCR Master Mixは汎用性の高いTaq DNA polymeraseをベースとして開発されたリアルタイムPCR用試薬です。2×マスターミックスであり、各種プローブ、プライマー、蒸留水、及びサンプルを加えるだけで、簡単にリアルタイムPCRを行うことができます。

## 特長1 高い特異性

- ・非特異反応を抑えるため、抗Taq抗体を採用しております。
- ・化学修飾法に比べTaq DNA polymeraseが迅速に再活性化するため、アッセイ時間の短縮が可能です。

## 特長2 広い汎用性

- ・TaqMan®アッセイや、プローブアッセイに広く対応します。

| 品名  | 包装             | 保存温度 | Code No. | 価格      |
|---|----------------|------|----------|---------|
| 各種プローブを用いたリアルタイムPCR用のマスターミックス<br><b>Realtime PCR Master Mix</b> | 200回用 (1ml×5本) | -20℃ | QPK-101  | ¥37,000 |
|   | 40回用 (1ml×1本)  |      | QPK-101T | ¥10,000 |

\*本製品は2倍濃度に調製されています。上記回数は50μL反応系での回数です。装置などによって推奨容量は異なります。

### 関連商品

| 品名  | 包装         | 保存温度 | Code No.  | 価格         |
|---|------------|------|-----------|------------|
| 1stストランドcDNA合成キット<br><b>ReverTra Ace -α-</b> ® (逆転写酵素+dNTPs他) | 100回用      | -20℃ | FSK-101   | ¥53,000    |
| 逆転写酵素<br><b>ReverTra Ace</b> ®                                | 10,000U×1本 | -20℃ | TRT-101   | ¥15,000    |
|   | 10,000U×5本 |      | TRT-102   | ¥60,000    |
| <b>RNase Inhibitor</b> (Native type)                          | 2,500U×1本  | -20℃ | SIN-101   | ¥9,000     |
|   | 2,500U×5本  |      | SIN-102   | ¥36,000    |
| <b>RNase Inhibitor</b> (Recombinant type)                     | 2,500U×1本  | -20℃ | SIN-201   | ¥9,000     |
|   | 2,500U×5本  |      | SIN-202   | ¥36,000    |
| 核酸増幅リアルタイムモニタリング装置<br><b>LineGene</b> (本体+ソフトウェア)             | 1式         | -    | BFFQD-33A | ¥1,890,000 |

販売中止

## Realtime PCR Master Mixシリーズまとめ

☆☆☆: Good ☆☆☆☆: Excellent

| 品名  | Code No.            | 用途                       | バッチリファレンス対応 | キャピラリー対応 | 1 step* RT-PCR | リアイアビリティ                                    |
|---|---------------------|--------------------------|-------------|----------|----------------|---|
| <b>SYBR® Green Realtime PCR Master Mix</b>        | QPK-201<br>QPK-201T | SYBR® Green              | ○           | ○        | ○              | ☆☆☆   |
| <b>SYBR® Green Realtime PCR Master Mix -Plus-</b> | QPK-211<br>QPK-211T | SYBR® Green              | ○           | ○        | -              | ☆☆☆☆ <span style="color: green;">NEW</span> |
| <b>Realtime PCR Master Mix</b>                    | QPK-101<br>QPK-101T | TaqMan® アッセイ<br>プローブアッセイ | ○           | ○        | ○              | ☆☆☆   |

\* 別途、逆転写酵素 (ReverTra Ace®, Code No.:TRT-101)、及びRNase inhibitor (Code No.:SIN-101) をご準備いただく必要があります。

※本製品は、F. Hoffmann-La Roche Ltd., Roche Molecular Systems Inc.並びにThe Perkin-Elmer Corporationとのライセンス契約に基づき販売されるものです。

※LightCycler™は、Idaho Technology Inc.並びにRoche Molecular Systems Inc.の商標です。

※SYBR®は、Molecular Probes Inc.の登録商標です。 ※TaqMan®は、Roche Molecular Systems Inc.の登録商標です。

※ABI PRISM®は、The Perkin-Elmer Corporationの登録商標です。

## 細胞・抗体関連特集

今回は「細胞・抗体関連製品」を特集いたします。  
最近の研究の傾向として、*in vitro*での実験に加え、細胞などを用いる*in vivo*実験が確実に増えてきているようです。ただ、その手法は様々です。今回はその中から主だったものをピックアップしてみました。また、試薬セレクションガイドにおいても、細胞・抗体解析に関連する内容を取り上げております。

本製品はすでに販売を中止しております。

NEW

### Products

## ニワトリポリクローナル抗体受託サービス

マウス・ラビット等の免疫でお困りの方に朗報。

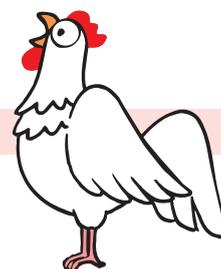
免疫したニワトリの「抗血清」および「卵」をご提供いたします（精製のオプションもございます）。「cDNAクローニング、または人口遺伝子合成⇒タンパク質発現⇒タンパク質精製⇒抗体作製」の一連の作業の受託もお受けいたします。

### 特長1 ▶ 哺乳動物由来タンパク質での抗体価が上がらない場合に有効

- ・抗原とするタンパク質のアミノ酸配列が、免疫動物由来のホモログ遺伝子と高いホモロジーを有しているために抗体価が上昇しない場合に有効です。

### 特長2 ▶ 大量の抗体の取得が可能です。

- ・大量の抗体の取得を目的とされる場合には、採卵コースとのセットお薦めします。免疫されたニワトリ固体の卵黄には、卵1個あたり数10mgのIgYが分泌されます。



#### 受託フロー

- 弊社ホームページ受託サービスコーナー (<http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr/product/custom/index.html>) からオーダーシートをダウンロードしていただき、抗原の情報やその他詳細をご記入の上、弊社までお問い合わせください。
- ↓
- 抗原タンパク質およびペプチド (0.5mg/ml以上の濃度で2.5mg以上) を代理店にお渡しください。  
※送付方法の詳細につきましては、ご相談させていただきます。
- ↓
- 「ポリクローナル抗体 (抗体価の評価結果報告書：ELISAデータを添付)」をお送りいたします。

#### サービスの内容

| 項目                    | 内容  | 納期    | 備考   | 価格       |
|-----------------------|---|-------|--|----------|
| ニワトリポリクローナル抗体血清+採卵コース | 免疫数2羽、免疫5回 (2週間ピッチ)<br>3回目免疫終了後 ELISA測定<br>4回目終了後、採卵を開始<br>5回目終了後、1羽について全採血               | 11週間~ | 納品：抗血清15mL、卵(4回免疫後に採取されたもの1個~5個まで)(どちらか1羽分になります)<br>どちらの個体も1産卵しなかった場合、5回目免疫終了後飼育延長せずに打ち切る場合、21万円となります。 | ¥220,000 |
| ニワトリポリクローナル抗体血清コース    | 免疫数2羽、免疫4回 (2週間ピッチ)<br>3回目免疫終了後 ELISAデータをお客様にお送りし、全採血する個体を選択していただきます。<br>4回目終了後、1羽について全採血 | 9週間~  | 納品：抗血清15mL (どちらか1羽分になります)  | ¥200,000 |
| <b>&lt;オプション&gt;</b>  |   |       |  |          |
| 延長飼育                  | 1羽、10日単位で承ります。  |       | 追加の抗原をお願いする場合があります。  | ¥10,000  |
| ニワトリ抗血清精製             | DEAEカラムによる精製を行います。  | 3週間~  |  | ¥140,000 |
| 卵黄IgG精製 (卵1個分)        | 卵黄処理、硫酸分画込み。  | 2週間~  |  | ¥75,000  |
| 卵黄IgY精製 (卵2~5個分)      | 卵黄処理、硫酸分画込み。  | 2週間~  |  | ¥150,000 |

※免疫途中でニワトリが2羽とも死亡した場合、半額のご請求とさせていただきます。

※抗血清を1,000倍希釈しELISAの測定値が2羽ともOD0.5以下の場合、半額のご請求とさせていただきます。



## Products

# β-Amyloid related products

2006年9月19日～11月30日の期間中、β-Amyloid関連商品を20%offでご購入いただけます。

β-Amyloid関連研究に最適な、高純度ペプチドです。

AnaSpec社は、様々なペプチド関連試薬を扱っている米国のペプチドカンパニーです。今回紹介させていただくβ-Amyloid研究試薬以外にも、種々の商品を扱っております(⇒<http://www.anaspec.com/>)。また、この度、Anaspec社の商品の価格を全面的に見直し、よりお求め安い価格へ変更いたしております。この機会に一度お試しください。

### 特長1 様々なβ-Amyloid関連ペプチドから選択可能

・非ラベルペプチドから、ビオチン化ペプチド、蛍光ペプチドまで様々な種類のβ-Amyloid関連ペプチドを揃えています。

### 特長2 Secretaseの活性測定用、及び阻害実験用ペプチドを豊富にラインアップ

#### 一口メモ

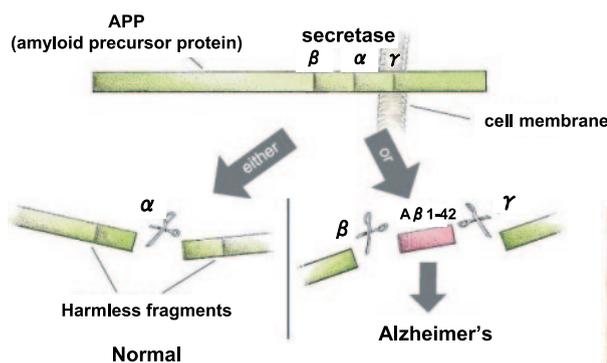


図1. Amyloid β peptideの生成機構

脳へのβアミロイドの沈着はアルツハイマー病の発病初期にみられます。老人斑の核となるβアミロイドはヘテロな長さを持つペプチドの混合物ですが、1-40と1-42が主要成分であることが知られています。βアミロイドをコードする遺伝子は21番染色体上にあり、最初は、膜貫通タンパク質であるアミロイド前駆タンパク質(APP)として翻訳されます。その後、βセクレターゼにより、Met671で切断を受けた後、γセクレターゼにより更に切断を受け、βアミロイドペプチドが生成されます。

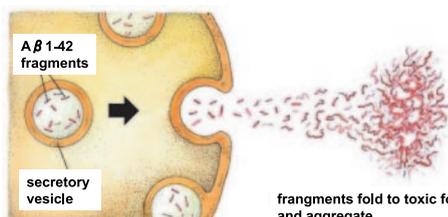


図2. Amyloid β peptideの輸送機構

※種の記載のないものはHumanの配列です。

価格改定しました

保存温度：-20℃

| 品名及び内容                      | 包装    | Code No.   | 価格      | キャンペーン価格 | 備考  | 参考文献   |
|-----------------------------|-------|------------|---------|----------|---|--|
| β-Amyloid(1-11)             | 1mg   | AS22819    | ¥12,000 | ¥9,600   | C1q binding site                              | <i>Alzheimers Dis.</i> 7, 37 (2005)  |
| β-Amyloid(1-16)             | 1mg   | AS24225    | ¥14,000 | ¥11,200  | —   | <i>JBC.</i> 280, 16601 (2005)  |
| β-Amyloid(1-28)             | 0.5mg | AS24231    | ¥17,000 | ¥13,600  | —   | —  |
| β-Amyloid(1-33)             | 0.5mg | AS60250-05 | ¥42,000 | ¥33,600  | —   | <i>J. Med. Biol. Res.</i> 30, 1153 (1997)  |
| β-Amyloid(1-39)             | 0.5mg | AS24295    | ¥30,000 | ¥24,000  | —   | <i>Biochem.</i> 32, 4693 (1993)  |
| β-Amyloid(1-40)             | 0.5mg | AS24235    | ¥24,000 | ¥19,200  | (1-42)と共にAlzheimer病の脳における老人斑生成時における主要なコア物質である | <i>PNAS</i> 82, 4245 (1985)<br><i>Neuron</i> 16, 921 (1996)<br><i>Nat. Med.</i> 4, 827 (1998)<br><i>J. Neurosci.</i> 17, 8187 (1997) |
| β-Amyloid(1-40)・HCl         | 0.5mg | AS23211    | ¥30,000 | ¥24,000  |   |  |
| Biotin-β-Amyloid(1-40)      | 0.1mg | AS23512-01 | ¥18,000 | ¥14,400  |   |  |
| β-Amyloid(40-1)・HCl         | 0.5mg | AS21795    | ¥40,000 | ¥32,000  | コントロール配列                                      | <i>Acta Cytol.</i> 40, 873 (2000)  |
| β-Amyloid(1-40), mouse, rat | 0.5mg | AS25380    | ¥44,000 | ¥35,200  | マウス、ラット配列に対応                                  | —  |
| β-Amyloid(1-42)             | 0.5mg | AS24224    | ¥32,000 | ¥25,600  | (1-40)に比べ高い凝集性を示す                             | <i>Neurosci.</i> 110, 199 (2002)<br><i>JBC.</i> 272, 21037 (1997)  |
| β-Amyloid(1-42)・HCl         | 0.5mg | AS21791    | ¥44,000 | ¥35,200  |   |  |
| Biotin-Amyloid(1-42)        | 0.1mg | AS23524-01 | ¥24,000 | ¥19,200  |   |  |
| β-Amyloid(42-1)             | 0.1mg | AS27276-01 | ¥18,000 | ¥14,400  |   | <i>J. Pharmacol. Exp. Ther.</i> 10.1124/jpet.105.083543 (2005).  |
| β-Amyloid(42-1)・HCl         | 0.1mg | AS60291-01 | ¥24,000 | ¥19,200  | コントロール配列                                      |  |
| β-Amyloid(1-42), mouse, rat | 0.5mg | AS25381    | ¥56,000 | ¥44,800  | マウス、ラット配列に対応                                  | —  |

価格改定  
しました

保存温度：-20℃

| 品名及び内容  | 包装    | Code No.   | 価格      | キャンペーン<br>価格 | 備考   | 参考文献   |
|---|-------|------------|---------|--------------|--|--|
| $\beta$ -Amyloid(1-43)                              | 0.5mg | AS25356    | ¥55,000 | ¥44,000      | 最もfibrillogenicな微少繊維を形成することが知られている               | <i>Biopolymers</i> <b>50</b> , 733 (1999)<br><i>Biochem.</i> <b>32</b> , 4693 (1993) |
| $\beta$ -Amyloid(2-42)                              | 0.1mg | AS29909-01 | ¥15,000 | ¥12,000      | —  | <i>JBC.</i> <b>276</b> , 42645 (2001)  |
| [pGlu(Pyr3)]- $\beta$ -Amyloid(3-40)                | 0.1mg | AS29906-01 | ¥13,000 | ¥10,400      | トリガーの一つ  | <i>JBC.</i> <b>280</b> , 34186 (2005)  |
| [pGlu(Pyr3)]- $\beta$ -Amyloid(3-42)                | 0.1mg | AS29907-01 | ¥15,000 | ¥12,000      | Alzheimer病、Down症で脳への堆積を確認                        | <i>Neurobiology Nature</i> <b>405</b> , 531 (2000)                                   |
| $\beta$ -Amyloid(4-10)                              | 1mg   | AS60226-1  | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | <i>BBRC.</i> <b>321</b> , 324 (2004);  |
| $\beta$ -Amyloid(4-42)                              | 0.1mg | AS29908-01 | ¥15,000 | ¥12,000      | —  | <i>JBC.</i> <b>271</b> , 33623 (1996)  |
| $\beta$ -Amyloid(8-42)                              | 0.1mg | AS60085-01 | ¥20,000 | ¥16,000      | —  | <i>JBC.</i> <b>271</b> , 33623 (1996)  |
| $\beta$ -Amyloid(10-20)                             | 1mg   | AS25365    | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | —  |
| $\beta$ -Amyloid(12-20)                             | 1mg   | AS61102    | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | <i>PNAS.</i> <b>88</b> , 3363 (1991)   |
| $\beta$ -Amyloid(12-28)                             | 0.5mg | AS24229    | ¥14,000 | ¥11,200      | —  | <i>Am. J. Pathol.</i> <b>165</b> , 937 (2004)  |
| $\beta$ -Amyloid(15-21)                             | 1mg   | AS60228-1  | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | <i>JBC.</i> <b>279</b> , 52781 (2004)  |
| $\beta$ -Amyloid(16-20)                             | 1mg   | AS60229-1  | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | <i>JBC.</i> <b>271</b> , 8545 (1996)   |
| $\beta$ -Amyloid(17-21)                             | 1mg   | AS60230-1  | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | <i>Nat. Med.</i> <b>4</b> , 822 (1998)   |
| [Pro18, Asp21] $\beta$ -Amyloid(17-21), iAb5        | 1mg   | AS60618    | ¥17,000 | ¥13,600      | Fibrillogenesis inhibitor<br>Beta-sheet breaker  | <i>J. Neuropathol. Exp. Neurol.</i> <b>59</b> , 11 (2000)                            |
| Biotin- $\beta$ -Amyloid(17-40)                     | 0.1mg | AS23541-01 | ¥19,000 | ¥15,200      | —  | <i>Biochem.</i> <b>39</b> , 12284 (2000)   |
| $\beta$ -Amyloid(18-28)                             | 1mg   | AS61133    | ¥12,000 | ¥9,600       | —  | <i>PNAS.</i> <b>88</b> , 3363 (1991).  |
| $\beta$ -Amyloid/A4 Protein Precursor (APP)(96-110) | 0.5mg | AS25372    | ¥16,000 | ¥12,800      | Ac-NWCKRGRKQCKTHPH-NH2<br>(Disulfide bond: 3-10) | —  |
| $\beta$ -Amyloid/A4 Protein Precursor (657-676)     | 0.5mg | AS25378    | ¥16,000 | ¥12,800      | HHGVVEVDAAVTPEERHLSK                             | —  |
| $\alpha$ -Secretase Substrate 1                     | 1mg   | AS60271    | ¥42,000 | ¥33,600      | MCA-HQKLVFFAK(DNP)                               | —  |
| $\beta$ -Secretase Substrate 1                      | 1mg   | AS60268    | ¥42,000 | ¥33,600      | MCA-EVKVDAEFK(DNP)                               | —  |
| $\beta$ -Secretase Substrate 2                      | 1mg   | AS60269    | ¥42,000 | ¥33,600      | MCA-EVKMDAEFK(DNP)                               | —  |
| $\beta$ -Secretase Substrate 3                      | 1mg   | AS60270    | ¥42,000 | ¥33,600      | MCA-EVNLDAEFK(DNP)                               | <i>J. Neurochem.</i> <b>81</b> , 237 (2002);   |
| $\beta$ -Secretase Substrate 4                      | 0.1mg | AS60267    | ¥30,000 | ¥24,000      | FAM-EVNLDFAFK(QXL · 520)                         | —  |
| $\beta$ -Secretase Inhibitor 1                      | 1mg   | AS23958    | ¥30,000 | ¥24,000      | KTEEISEVN-Sta-VAEF<br>(Sta = statine)            | <i>Nature</i> <b>402</b> , 537 (1999)  |
| $\beta$ -Secretase Inhibitor 2                      | 1mg   | AS23960    | ¥30,000 | ¥24,000      | KTEEISEVN-Sta-VAEF-NH2<br>(Sta=Statine)          | —  |

※詳細に関しましては、<http://www.anaspec.com/>をご参照ください。  
※上記以外にも対象商品がございます。弊社webサイトにてご確認ください。

CELL APPLICATIONS, INC.

## Products

# マウス・ラット神経幹細胞

NEW

細胞分化研究、再生治療研究などに利用できます。

マウス及びラット胎児の大脳線条体と中脳より分離された第1継代細胞(マウス)、及び初代細胞(ラット)です。最適化された専用の培地を用いることで、マウス神経幹細胞(MNSC)で3回、及びラット神経幹細胞(RNSC)で2回まで、未分化な状態(ニューロスフェアの状態)で分裂させることが可能です。特に、再生研究に適しています。

### 特長1 分化・再生実験に最適

・多分化能があり、神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトへの分化が可能です。

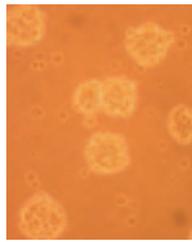
### 特長2 確実

・分化した細胞は $\beta$ -tubulin III、GFAP、及びオリゴデンドロサイトマーカーO4陽性であることを確認しています。

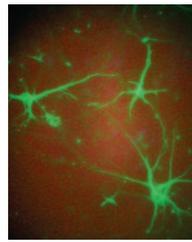
価格を変更しております。  
現在の情報は、お問い合わせいただきますようお願いいたします。

## 実施例

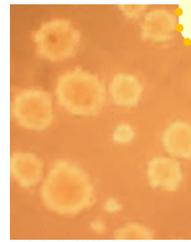
MNSCとRNSCを分化後、 $\beta$ -tubulin染色を行いました。その結果、チューブリンの繊維が鮮明に染色され、分化が正常に誘導されたことを確認することができました。



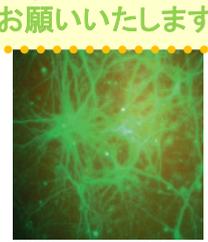
未分化状態でのMNSC



分化後 $\beta$ -tubulin染色したMNSC



未分化状態でのRNSC



分化後 $\beta$ -tubulin染色したRNSC

| 品名                             | 包装                           | Code No.    | 価格       |
|--------------------------------|------------------------------|-------------|----------|
| マウス神経幹細胞 MNSC, fetal           | 2×10 <sup>6</sup> cells/バイアル | CAMS82020f  | ¥120,000 |
| マウス神経幹細胞 MNSC total kit, fetal | 1キット                         | CAMS820K20f | ¥144,000 |
| マウス神経幹細胞増殖培地                   | 500ml                        | CAM813500   | ¥25,000  |
| マウス神経幹細胞分化培地                   | 250ml                        | CAM813D250  | ¥14,000  |
| ラット神経幹細胞 RNSC, adult           | 2×10 <sup>6</sup> cells/バイアル | CARS82020a  | ¥120,000 |
| ラット神経幹細胞 RNSC total kit, adult | 1キット                         | CARS820K20a | ¥144,000 |
| ラット神経幹細胞 RNSC, fetal           | 2×10 <sup>6</sup> cells/バイアル | CARS82020f  | ¥120,000 |
| ラット神経幹細胞 RNSC total kit, fetal | 1キット                         | CARS820K20f | ¥144,000 |
| ラット神経幹細胞増殖培地                   | 500ml                        | CAR813500   | ¥25,000  |
| ラット神経幹細胞分化培地                   | 250ml                        | CAR813D250  | ¥14,000  |
| ポリオルニチンコート溶液*                  | 25ml                         | CA12725     | ¥4,500   |

\* マウス・ラット神経幹細胞を分化させる際のプレートコート剤として使用します。

## 関連新商品

| 品名                               | 包装                           | Code No.     | 価格       |
|----------------------------------|------------------------------|--------------|----------|
| イヌ骨格筋細胞 CnSkMC                   | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CACn15005    | ¥100,000 |
| イヌ骨格筋細胞 CnSkMC total kit         | 1キット                         | CACn150K05   | ¥135,000 |
| イヌ骨格筋細胞増殖培地                      | 500ml                        | CACn151500   | ¥25,000  |
| イヌ肺動脈内皮細胞 CnPAEC                 | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CACn30205    | ¥95,000  |
| イヌ肺動脈内皮細胞 CnPAEC total kit       | 1キット                         | CACn302K05   | ¥130,000 |
| イヌ大動脈内皮細胞 CnAOEC                 | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CACn30405    | ¥95,000  |
| イヌ大動脈内皮細胞 CnAOEC total kit       | 1キット                         | CACn304K05   | ¥130,000 |
| イヌ内皮細胞増殖培地                       | 500ml                        | CACn211500   | ¥22,000  |
| イヌ肺動脈平滑筋細胞 CnPASMC               | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CACn35205    | ¥85,000  |
| イヌ肺動脈平滑筋細胞 CnPASMC total kit     | 1キット                         | CACn352K05   | ¥118,000 |
| イヌ平滑筋細胞増殖培地                      | 500ml                        | CACn311500   | ¥23,000  |
| イヌ骨芽細胞 CnOb                      | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CACn40605    | ¥100,000 |
| イヌ骨芽細胞 CnOb total kit            | 1キット                         | CACn406K05   | ¥135,000 |
| イヌ骨芽細胞増殖培地                       | 500ml                        | CACn417500   | ¥25,000  |
| イヌ間葉系幹細胞 CnMSC                   | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CACn49205    | ¥100,000 |
| ラット脳微小血管内皮細胞 RBMVEC              | 5×10 <sup>5</sup> cells/バイアル | CAR84005     | ¥127,000 |
| ラット脳微小血管内皮細胞 RBMVEC total kit    | 1キット                         | CAR840K05    | ¥165,000 |
| ラット脳微小血管内皮細胞増殖培地                 | 500ml                        | CAR811500    | ¥22,000  |
| ヒト末梢血単核球細胞 HPBMC, adult          | 5×10 <sup>7</sup> cells/バイアル | CA690100a    | ¥45,000  |
| ヒト末梢血単核球細胞 HPBMC total kit adult | 1キット                         | CA690K2100a  | ¥58,000  |
| ヒト赤血球 HRBC, adult                | 5×10 <sup>8</sup> cells/バイアル | CA6941000a   | ¥45,000  |
| ヒト赤血球 HRBC total kit, adult      | 1キット                         | CA694K21000a | ¥58,000  |
| ヒト血球系細胞増殖培地                      | 250ml                        | CA615250     | ¥15,000  |

## 関連商品

\*イヌ間葉系幹細胞の培養に最適です。

| 品名及び内容                | 包装    | Code No.  | 価格      |
|-----------------------|-------|-----------|---------|
| 間葉系幹細胞増殖培地 MF-medium® | 500ml | TMMFM-001 | ¥35,000 |

本製品はすでに販売を中止しております。

NEW

## Products

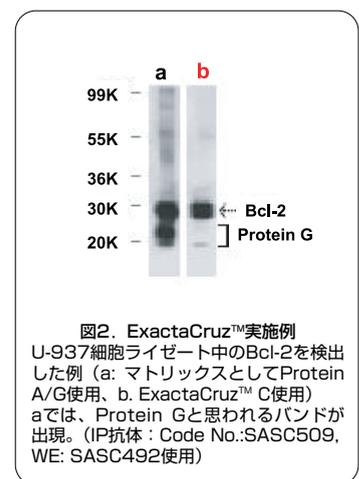
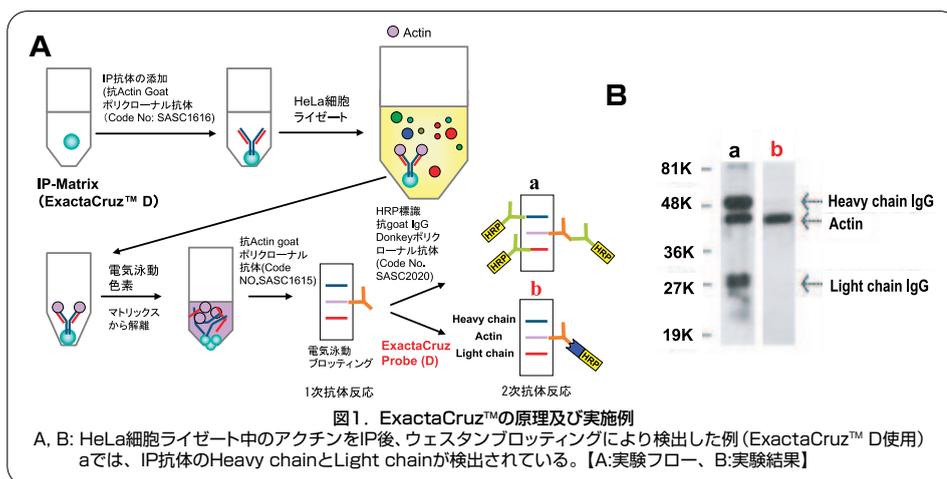
# ExactaCruz™ IP/Western Blot Reagents

免疫沈降 (IP) 実験に朗報。IP抗体やProtein A/Gなどに由来するノイズをカット。

免疫沈降実験において、沈降させたターゲットタンパク質をウェスタンブロットティング (WB) で検出する際、マトリックスから分離したProtein A/GやIP抗体が検出されてしまい、目的タンパク質の検出が困難になることがありました。ExactaCruz™はそれらの問題を解決するために開発された免疫沈降及び検出試薬です。用いるIP及びWB抗体の組み合わせから使用する試薬を選択することができます。

### 特長 IP抗体のH鎖とL鎖や、Protein A/G等に由来するバンドを検出しません。

- ・ WB抗体とIP抗体との組み合わせに応じてキットを選択することにより、IP抗体に起因するノイズを検出せずに、目的バンドを高感度に検出することができます。
- ※マトリックスへの非特異吸着を回避するために、サンプルを必要に応じてPreclearing Matrixで処理すると良い場合があります。



| 品名及び内容  | WB抗体の免疫動物種 | IP抗体の免疫動物種      | 包装   | 保存温度 | Code No.  | 価格      |
|---|------------|-----------------|------|------|-----------|---------|
| <b>ExactaCruz™ A</b><br>・免疫沈降マトリックス (25%V/V) 2ml<br>・WB用HRP標識プローブ (ExactaCruz™ probe) | Goat       | Rabbit or Mouse | 1kit | 4℃   | SASC45038 | ¥29,000 |
| <b>ExactaCruz™ B</b>  | Mouse      | Goat or Rabbit  | 1kit | 4℃   | SASC45039 | ¥29,000 |
| <b>ExactaCruz™ C</b>  | Rabbit     | Goat or Mouse   | 1kit | 4℃   | SASC45040 | ¥29,000 |
| <b>ExactaCruz™ D</b>  | Goat       | Goat            | 1kit | 4℃   | SASC45041 | ¥29,000 |
| <b>ExactaCruz™ E</b>  | Mouse      | Mouse           | 1kit | 4℃   | SASC45042 | ¥29,000 |
| <b>ExactaCruz™ F</b>  | Rabbit     | Rabbit          | 1kit | 4℃   | SASC45043 | ¥29,000 |

※本キットのパーツは、有機水銀化合物であるチメロサルが防腐剤として含まれます。ご注意ください。

### 関連商品

| 品名                                 | 使用キットとIP抗体の種類          | 包装           | 保存温度 | Code No.  | 価格      |
|------------------------------------|------------------------|--------------|------|-----------|---------|
| <b>Preclearing Matrix A-Rabbit</b> | ExactaCruz™ AでRabbit使用 | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45052 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix A-Mouse</b>  | ExactaCruz™ AでMouse使用  | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45058 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix B-Goat</b>   | ExactaCruz™ BでGoat使用   | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45053 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix B-Rabbit</b> | ExactaCruz™ BでRabbit使用 | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45059 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix C-Goat</b>   | ExactaCruz™ CでGoat使用   | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45054 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix C-Mouse</b>  | ExactaCruz™ CでMouse使用  | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45060 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix D</b>        | ExactaCruz™ DでGoat使用   | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45055 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix E</b>        | ExactaCruz™ EでMouse使用  | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45056 | ¥12,000 |
| <b>Preclearing Matrix F</b>        | ExactaCruz™ FでRabbit使用 | 1ml (25%V/V) | 4℃   | SASC45057 | ¥12,000 |

本製品はすでに販売を中止しております。

## Products

# Monoclonal antibodies for infectious disease (Matched-pair components)

ウィルスの検出系構築に最適な抗体のペアをご提供いたします。

Fitzgerald社は高性能かつ高品質な抗体を数多く取扱っているメーカーです。下記リスト中の抗体は、Capture用、およびDetection用として相性の良さが確認されている組み合わせを示しています。

### 特長1 アッセイ系の構築に最適

- ・あらかじめ至適化された組み合わせの抗体をペアで用いることにより、簡便・高効率にアッセイ系を組み立てることができます。

### 特長2 高品質

- ・全てのクローンは高純度に精製されたマウス由来のモノクローナル抗体であり、様々なアッセイに安心してご使用いただけます。

| Capture antibody         | Catalog# (Clone#)    | 価格      | 製品・クローン情報  | Detection antibody       | Catalog# (Clone#)                       | 価格      | 製品・クローン情報  |
|--------------------------|----------------------|---------|--|--------------------------|---|---------|--|
| <b>Adenovirus MAB</b>    | FG10A02-C (M0111149) | ¥48,000 | 容量：100 µg<br>Immunogen: Adenovirus<br>Subclass: IgG <sub>2a</sub><br>親和定数: N/A   | <b>Adenovirus MAB</b>    | FG10A02-D (M0111148)                    | ¥48,000 | 容量：100 µg<br>Immunogen: Adenovirus<br>Subclass: IgG <sub>2a</sub><br>親和定数: N/A   |
| <b>HBsAg (Ad/Ay) MAB</b> | FG10H05-H (M701077)  | ¥42,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Highly purified Hepatitis B Surface Antigen<br>Subclass: IgG <sub>2b</sub><br>親和定数: 3.0×10 <sup>10</sup> L/M<br>交差性: AY+AD specific                 | <b>HBsAg MAB</b>         | FG10H05-G (M701079)                     | ¥42,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Highly purified Hepatitis B Surface Antigen<br>Subclass: IgG <sub>1</sub><br>親和定数: 8.0×10 <sup>9</sup> L/M<br>交差性: AY+AD specific                   |
| <b>HBcAg MAB</b>         | FG10H50-B (M41058)   | ¥98,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Purified HBcAg<br>Subclass: IgG <sub>2a</sub><br>親和定数: ~6×10 <sup>9</sup> L/M<br>交差性: HBcAg 100%<br>HBsAg 0%, HBeAg 0%                              | <b>HBcAg MAB</b>         | FG10H50 (M41059)                        | ¥98,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Purified HBcAg<br>Subclass: IgG <sub>2b</sub><br>親和定数: ~3.3×10 <sup>9</sup> L/M<br>交差性: HBcAg 100%<br>HBsAg 0%, HBeAg 0%                            |
| <b>Influenza A MAB</b>   | FG10I50 (M2110169*)  | ¥56,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Influenza A from A/Texas strain<br>Subclass: IgG<br>親和定数: ~1.2×10 <sup>10</sup> L/M<br>交差性: Recognizes the nucleoprotein. Reacts with all subtypes. | <b>Influenza A MAB</b>   | FG10I50 (M2110169*) (Multiple epitopes) | ¥56,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Influenza A from A/Texas strain<br>Subclass: IgG<br>親和定数: ~1.2×10 <sup>10</sup> L/M<br>交差性: Recognizes the nucleoprotein. Reacts with all subtypes. |
| <b>Influenza B MAB</b>   | FG10I55-B (M2110171) | ¥71,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: Influenza B from B/Singapore strain<br>Subclass: IgG <sub>2</sub><br>親和定数: 1.2×10 <sup>10</sup> L/M<br>交差性: Recognizes the nucleoprotein.           | <b>Competitive ELISA</b> | N/A                                     | N/A     | N/A  |
| <b>Parvovirus MAB</b>    | FG10P59-B (M1102914) | ¥70,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: canine parvovirus<br>Subclass: IgG <sub>2a</sub><br>親和定数: N/A<br>交差性: This clone is reactive to canine parvovirus.                                  | <b>Parvovirus MAB</b>    | FG10P59 (M01102913)                     | ¥70,000 | 容量：1mg<br>Immunogen: canine parvovirus<br>Subclass: IgG <sub>2a</sub><br>親和定数: N/A<br>交差性: This clone is reactive to canine parvovirus.                                  |
| <b>Rotavirus MAB</b>     | FG10R30 (M29301*)    | ¥54,000 | 容量：200 µg<br>Immunogen: Purified Rotavirus<br>Subclass: IgG<br>親和定数: N/A<br>交差性: Specific to human, monkey & porcine p41 capsid protein.                                 | <b>Rotavirus MAB</b>     | FG10R30 (M29301*) (Multiple epitopes)   | ¥54,000 | 容量：200 µg<br>Immunogen: Purified Rotavirus<br>Subclass: IgG<br>親和定数: N/A<br>交差性: Specific to human, monkey & porcine p41 capsid protein.                                 |

\*これらの抗体はCapture用およびDetection用の両方にご使用いただけます。

\*\*これらの抗体以外にも様々なclonelに由来する抗体もご用意しております。詳しくは、<http://www.fitzgerald-fii.com/>をご参照ください。

本製品はすでに販売を中止しております。

## GENE<sup>✓</sup>ALL™ Genomic DNA Purification System

品質に自信あり。確かな品質と工夫で様々な用途の核酸抽出を簡便・確実にサポート。

GENE ALL™ Genomic DNA Purification Systemは、スピнкаラムを用いるGenomic DNA抽出試薬です。それぞれのサンプルに適した核酸吸着用シリカメンブレン、及びスピнкаラムを開発することにより、従来法に比べ高効率かつ簡便な抽出が可能となりました。

### GENE<sup>✓</sup>ALL™ Blood SV mini・Tissue SV mini・Cell SV mini

ヒト・動物組織・バクテリアなどからの高効率にDNAを抽出するためのキットです。



- GENE<sup>✓</sup>ALL™ Blood SV mini  
サンプル：ヒト及び動物全血・血清など ~200μl  
抽出時間：20~30min  
収 量：4~20μg (200μlサンプル)
- GENE<sup>✓</sup>ALL™ Cell SV mini  
サンプル：各種バクテリア、酵母、培養細胞 1~2ml培養液から回収した細胞  
(グラム陽性菌や酵母などは別途細胞壁分解酵素を準備していただく必要があります)  
抽出時間：30~120min  
収 量：10~50μg

- GENE<sup>✓</sup>ALL™ Tissue SV mini  
サンプル：各種組織 ~25mg  
抽出時間：25~220min (溶解時間による)  
収 量：20~60μg

M:λ HindIIIマーカー  
1~4:Rat liver  
5~8:Rat kidney

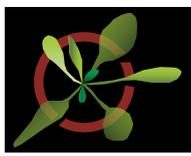
図1. Tissue SVを用いた組織由来DNA抽出例

### GENE<sup>✓</sup>ALL™ Plant SV mini

植物組織から高効率に高純度のDNAを抽出するために開発されたスピнкаラムキットです。シリカメンブレンカラムと試薬の改良で、さらに高効率な抽出が可能になりました。GMOサンプルなどにも対応可能です。



- GENE<sup>✓</sup>ALL™ Plant SV mini  
サンプル：植物組織 ~100mg (Wet weight)  
抽出時間：<40 min  
収 量：4~40μg  
溶出液量：30~400μl  
方 式：Spin/Vacuum



M:λ HindIIIマーカー

図2. Plant SVを用いた植物ゲノムDNA抽出例  
サンプル：シロイヌナズナ

※Vacuumと表示したスピнкаラムは市販のVacuum manifoldを用いるプロトコールにも対応可能です。

| 品名                                    | 包装    | 保存温度    | Code No. | 価格      | 1サンプル単価 |
|---------------------------------------|-------|---------|----------|---------|---------|
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Blood SV mini  | 100回用 | 室温、-20℃ | GB105101 | ¥30,000 | ¥300    |
|                                       | 250回用 |         | GB105152 | ¥65,000 | ¥260    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Tissue SV mini | 100回用 | 室温、-20℃ | GB104101 | ¥32,000 | ¥320    |
|                                       | 250回用 |         | GB104152 | ¥65,000 | ¥260    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Cell SV mini   | 100回用 | 室温、-20℃ | GB106101 | ¥34,000 | ¥340    |
|                                       | 250回用 |         | GB106152 | ¥68,000 | ¥272    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Plant SV mini  | 100回用 | 室温、-20℃ | GB117101 | ¥40,000 | ¥400    |
|                                       | 250回用 |         | GB117152 | ¥78,000 | ¥312    |

Ⓒ: 本製品には、危険物第4類、アルコール類(等級II)であるエタノールが含まれます。可燃性がございますので、お取り扱いにはご注意ください。

※詳細につきましては、<http://www.generabiosystem.com/english/index.html>をご参照ください。

価格改定しました

## GENE<sup>✓</sup>ALL™ DNA fragment/Plasmid Purification System

本製品はすでに販売を中止しております。

新発想のスピнкаラム式核酸抽出試薬です。高効率に高品質な核酸を抽出することができます。

従来技術に様々な改良を加えたスピнкаラム式DNA抽出キットです。用途に応じて最適なキットを選択できます。

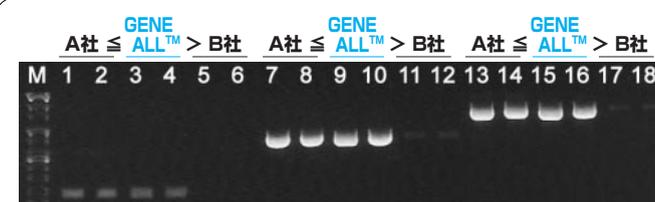
### GENE<sup>✓</sup>ALL™ PCR・Gel・CleanUp SV mini 様々なDNAフラグメントを迅速かつ効率的に精製できます。



ダイマーやバッファー成分などを約6分で除去  
**●GENE<sup>✓</sup>ALL™ PCR SV mini**  
 サンプル：PCR溶液（～100μl）  
 方式：Spin/Vacuum  
 抽出時間：約6min  
 収率：～90%

アガロースゲルからの迅速・高効率回収  
**●GENE<sup>✓</sup>ALL™ Gel SV mini**  
 サンプル：アガロースゲルスライス（～100mg）  
 方式：Spin/Vacuum  
 抽出時間：約15min  
 収率：約70～90%

バッファー成分を約6分で除去。40bpから回収  
**●GENE<sup>✓</sup>ALL™ CleanUP SV mini**  
 サンプル：酵素反応溶液等（～50μl）  
 方式：Spin/Vacuum  
 抽出時間：約6min  
 収率：～90%



A社 ≤ GENE<sup>✓</sup>ALL™ > B社    A社 ≤ GENE<sup>✓</sup>ALL™ > B社    A社 ≤ GENE<sup>✓</sup>ALL™ > B社

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Lane 1～6: 176bp DNAフラグメント  
 Lane 7～12: 757bp DNAフラグメント  
 Lane 13～18: 1.5kb DNAフラグメント

図2. Gel SV kitを用いたアガロースゲルからのDNA抽出効率比較

図1. 回収可能な核酸分子サイズ

40 80 100(bp) 10kb

PCR SV  
 Gel SV  
 CleanUp SV

### GENE<sup>✓</sup>ALL™ Plasmid SV mini・Quick・SV Midi シーケンス、制限酵素処理、in vitro転写、形質転換用の鑄型調製に最適です。

EasyClear™  
 Filter column unit  
 Reservoir



約10分間で作業完了  
**●GENE<sup>✓</sup>ALL™ Plasmid Quick**  
 Culture volume: ～3ml  
 方式：Spin  
 デブリ除去：EasyClear™（吸着と並行）  
 抽出時間：約10min  
 収量：～30μg  
 溶出液量：30～200μl

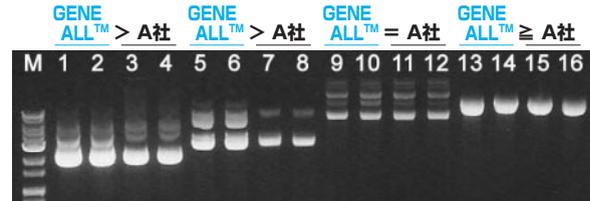
高性能なスタンダードタイプ  
**●GENE<sup>✓</sup>ALL™ Plasmid SV mini**  
 Culture volume: ～10ml  
 方式：Spin/Vacuum  
 デブリ除去：遠心  
 抽出時間：約25min  
 収量：～40μg  
 溶出液量：30～200μl



デブリ除去カラムと核酸抽出カラムを重ねて使用可能

アルコール沈殿不要・遠心対応  
**●GENE<sup>✓</sup>ALL™ Plasmid SV Midi**  
 Culture volume: ～100ml  
 方式：Spin/Vacuum  
 デブリ除去：EasyClear™  
 抽出時間：約50min  
 収量：～300μg  
 溶出液量：400-2000μl

※カラムは市販の50mlチューブにフィットするように設計されています。  
 ※スイング式の遠心機が必要です。



GENE<sup>✓</sup>ALL™ > A社    GENE<sup>✓</sup>ALL™ > A社    GENE<sup>✓</sup>ALL™ = A社    GENE<sup>✓</sup>ALL™ ≥ A社

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16

Lane 1～4:pUC18, Lane 5～8:pQE30, Lane 9～12:pET22h, Lane 13～16:pACYC184

図3. Plasmid SV mini kitを用いた抽出効率比較

| 品名                                     | 包装    | 保存温度    | Code No. | 価格      | 1サンプル単価 |
|--|-------|---------|----------|---------|---------|
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Gel SV          | 50回用  | 室温      | GB102150 | ¥10,000 | ¥200    |
|  | 200回用 |         | GB102102 | ¥32,000 | ¥160    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ PCR SV          | 50回用  | 室温      | GB103150 | ¥9,500  | ¥190    |
|  | 200回用 |         | GB103102 | ¥27,000 | ¥135    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ CleanUP SV      | 50回用  | 室温      | GB113150 | ¥9,500  | ¥190    |
|  | 200回用 |         | GB113102 | ¥27,000 | ¥135    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Plasmid SV mini | 50回用  | 室温、-20℃ | GB101150 | ¥9,000  | ¥180    |
|  | 200回用 |         | GB101102 | ¥27,000 | ¥135    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Plasmid Quick   | 50回用  | 室温、-20℃ | GB101050 | ¥9,000  | ¥180    |
|  | 200回用 |         | GB101002 | ¥27,000 | ¥135    |
| GENE <sup>✓</sup> ALL™ Plasmid SV Midi | 26回用  | 室温、-20℃ | GB101226 | ¥26,000 | ¥1,000  |
|  | 50回用  |         | GB101250 | ¥45,000 | ¥900    |

本製品には、危険物第4類、アルコール類（等級II）であるエタノールが含まれます。可燃性がございますので、お取り扱いにはご注意ください。  
 ※詳細につきましては、<http://www.generabiosystem.com/english/index.html>をご参照ください。

価格改定  
 しました

本製品はすでに販売を中止しております。

## 自己組織化単分子層 (SAMs) 形成試薬

金表面のSAMs研究や、相互作用研究のための金表面への官能基導入に有用なアルカンチオール試薬です。

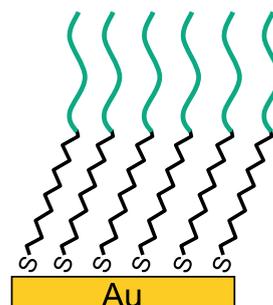
PEG(ポリエチレングリコール)分子を有する試薬は非特異的吸着を低減する効果が期待できます。PEGを介して官能基を導入できる試薬も取り揃えています。

### 特長1 金表面への非特異吸着を軽減

- ・ポリエチレングリコール(PEG)を含む自己組織化単分子層(SAMs)形成試薬は、金表面にSAMsを形成し、非特異吸着を抑制します。(下図に示すように、数多くの論文で使用されている実績があります。)

### 特長2 センサー表面への様々な物質の固定に最適

- ・表面プラズモン共鳴、水晶発振子、金電極、金ナノ粒子などの表面改質、及び核酸・蛋白・抗体・糖の固定化に好適です。



金表面上の自己組織化単分子層

### 特長3 作成したいSAMsに合った試薬を選択することが可能

- ・芳香環型、三芳香環型ジチオール試薬は、より剛直なSAMsを形成し、二つのチオール基で強固に金表面に結合します。

#### 【製品の紹介 (一部)】

|   |  |
|---|--|
| PEG <sub>3</sub> -OH alkanethiol<br>Anal. Chem. 2004, 76, 6116-21.; Anal. Chem.2005, 77,4013-19 |  |
| PEG <sub>6</sub> -COOH alkanethiol<br>J.Am.Chem.Soc., 2004, 126, 10808-9                        |  |
| PEG <sub>6</sub> -hydrazide alkanethiol   |  |
| PEG <sub>6</sub> -NHS ester alkanethiol   |  |
| Biotinylated PEG alkanethiol<br>Langmuir 2001, 17, 2807-16                                      |  |
| PEG <sub>3</sub> -OH aromatic dialkanethiol<br>Biosens Bioelectron. 2006, 21, 998-1006          |  |
| mPEG <sub>3</sub> -bis-phenol A dialkanethiol   |  |

| 品名及び内容  | 包装    | 保存温度 | Code No.   | 価格      |
|---|-------|------|------------|---------|
| PEG <sub>3</sub> -OH alkanethiol              | 100mg | -20℃ | SPSPT0011  | ¥45,000 |
| PEG <sub>6</sub> -COOH alkanethiol            | 100mg | -20℃ | SPSPT0012  | ¥65,000 |
| PEG <sub>6</sub> -hydrazide alkanethiol       | 100mg | -20℃ | SPSPT0012b | ¥72,000 |
| PEG <sub>6</sub> -NHS ester alkanethiol       | 100mg | -20℃ | SPSPT0012c | ¥72,000 |
| Biotinylated PEG alkanethiol                  | 100mg | -20℃ | SPSPT0012d | ¥75,000 |
| PEG <sub>3</sub> -OH aromatic dialkanethiol   | 100mg | -20℃ | SPSPT0013  | ¥45,000 |
| mPEG <sub>3</sub> -bis-phenol A dialkanethiol | 100mg | -20℃ | SPSPT0004  | ¥50,000 |

ここで示した製品は一部であり、さまざまな自己組織化単分子層形成試薬が数多くあります。

取扱い全商品は[http://www.toyoobo.co.jp/seihin/xr/product\\_feature/multisprinter/img/sensopath.pdf](http://www.toyoobo.co.jp/seihin/xr/product_feature/multisprinter/img/sensopath.pdf) または  
<http://www.sensopath.com/>を参照下さい

## SensoPath自己組織化単分子層形成試薬のSPRイメージングへの応用

東洋紡績（株） バイオ開発部 京基樹

### はじめに

表面プラズモン共鳴 (SPR) や水晶共振子 (QCM) などのラベルフリー測定において、非特異的吸着と特異的吸着を見分ける決定的な手段がないのが現状です。よって、いかに非特異的吸着を低減させるかが重要となります。ポリエチレングリコール (PEG) は生体材料 (バイオマテリアル) 研究の分野で蛋白質や細胞の吸着を抑制することが以前より知られています。SensoPath社のPEGを有する自己組織化単分子層 (SAMs) 形成試薬を用いて抗体を金表面に固定化することで、SPRイメージング測定における非特異的吸着を抑制できた例を紹介します。

### 使用した機器・試薬

SPRイメージング装置: MultiSPRinter® (TOYOBO: Code No.: SPR-203)、チップ: MultiSPRinter® Auチップ (TOYOBO: Code No.: SPR-200)、anti-actin抗体 (Chemicon)、SAMs形成試薬: PEG<sub>3</sub>-OH alkanethiol (HS-PEG-OH: SensoPath)、PEG<sub>6</sub>-COOH alkanethiol (HS-PEG-COOH: SensoPath) 11-CDT (同仁化学)、架橋剤: EDC (Pierce)、NHS (Pierce)、ブロッキング剤: Amino-dPEG<sub>4</sub>™ alcohol (H<sub>2</sub>N-PEG-OH: Quanta Biodesign)、リン酸緩衝液 (PBS: 10mM Phosphate, 150mM NaCl, pH7.4)、SPR測定用緩衝液 (20mM HEPES, 150mM NaCl, 2.5% BSA, pH7.2)

### アレイ作製方法 (図1)

#### (a) カルボキシル基の導入

HS-PEG-OHのエタノール溶液 (1mM) にAuチップを18時間浸漬し、チップ全面にPEGを導入しました。次にスポット部分に312nmの紫外光を2時間照射し、照射部分のアルカンチオールを除去し、以下の、三種類の 방법으로カルボキシル基を導入しました。

**Scheme A**……疎水性アルカン鎖のみを有する11-CDTを導入

**Scheme B**……PEG鎖を有するHS-PEG-COOHを導入

**Scheme C**……HS-PEG-COOHとHS-PEG-OHとを1:9の割合で導入

いずれの場合においてもアルカンチオールのエタノール溶液の濃度を1mMとし、紫外線照射処理したチップを2時間浸漬しました。

#### (b) 抗体の固定化

カルボキシル基を導入した金チップに0.2M EDC/0.05M NHSを2時間反応させ、カルボキシル基をスクシンイミド化した後、0.2mg/mlのanti-actin抗体溶液をMultiSPRinter®スプッターをスポットティングし、抗体を固定化しました (室温・2時間)。未反応のスクシンイミド基は2mg/mlのAmino-dPEG<sub>4</sub>™ alcoholにてブロッキングしました (室温・1時間)。

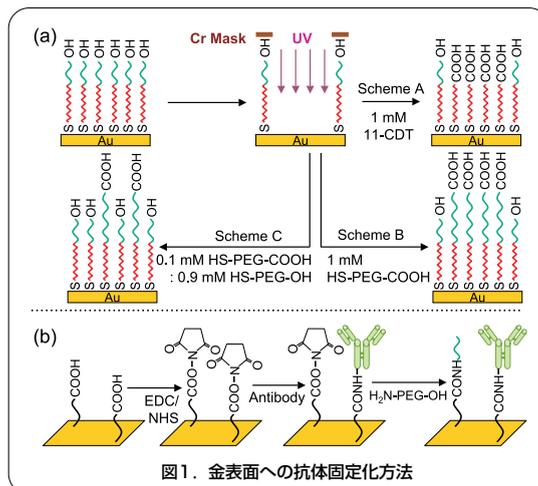


図1. 金表面への抗体固定化方法

### 測定と結果 (図2)

ラット脳ライゼート200μlをSPRイメージング装置に還流し、抗アクチン抗体のスポットと、ブランクスポットにおけるシグナル変化をモニターしました。Scheme Aの場合、ブランクスポットへの非特異的吸着が顕著でした。これは11-CDTの疎水性が高かったためと考えられました。親水性の高いPEGを介して抗体を固定化したScheme Bの場合、非特異的吸着は緩和されましたが、まだ不十分であり、これは表面の電荷によるものと考えられました。PEG鎖を有し、かつ表面の陰電荷を低減したScheme Cにおいては、非特異的吸着はほぼ抑制され、抗アクチン抗体への結合のみが観察できました。このように、PEG鎖を有するアルカンチオールを用い、表面のチャージを制御することで、SPRセンサー表面への非特異的吸着を抑制することに成功しました。

### 参考文献

- 1) Kyo, M., Usui-Aoki, K., Koga, H. *Analytical Chemistry* **77**, 7115-7121 (2005)
- 2) Usui-Aoki, K., Kyo, M., Kawai, M., Murakami, M., Imai, K., Shimada, K., Koga, H. *Frontiers in Drug Design & Discovery*, **2**, 23-22 (2006)
- 3) 京基樹, 表面プラズモン共鳴イメージングの生体分子解析への応用, 化学工業 (化学工業社) 2006年7月号, vol. 57, No.7, p547-552, ISSN: 0451-2014

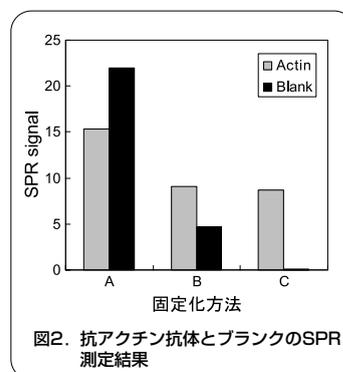


図2. 抗アクチン抗体とブランクのSPR測定結果

SPRイメージング装置: MultiSPRinter®の詳細に関しましては、弊社ホームページ (<http://www.toyobo.co.jp/bio>) でご覧頂くことができます。

## KOD-Plus-/ KOD-Plus- Ver.2

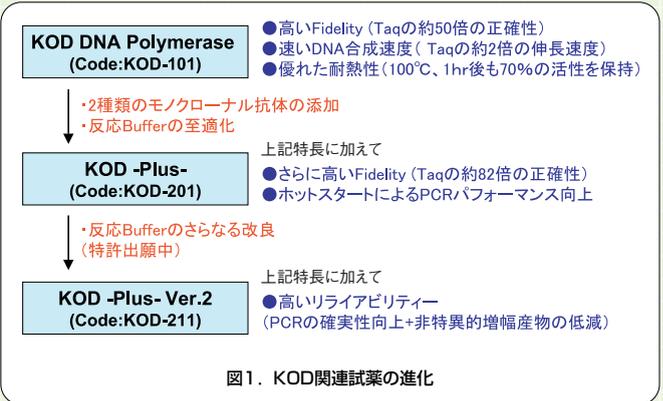
| 品名              | 包装       | Code No. | 価格       |
|-----------------|----------|----------|----------|
| KOD-Plus-       | 200U× 1本 | KOD-201  | ¥30,000  |
|                 | 200U× 5本 | KOD-202  | ¥120,000 |
|                 | 200U×11本 | KOD-203  | ¥230,000 |
| KOD-Plus- Ver.2 | 200U× 1本 | KOD-211  | ¥32,000  |

高正確性PCR酵素にありがちな「増えない」を解消。広いターゲットに対して確実な増幅をお約束します。



### はじめに

KOD-Plus-は、最高水準のFidelity（正確性・忠実性）を持つKOD DNA Polymeraseをベースとして開発された高正確性PCR用酵素です。本酵素は、Taq DNA Polymeraseの約82倍の正確性を有し、クローニングなどの正確性を要する用途に適します。また、本酵素には2種類のモノクローナル中和抗体が混合されており、購入いただいた段階でKOD DNA PolymeraseのDNA Polymerase活性と3'→5'Exonuclease（Proofreading）活性は完全に抑えられた状態になっています。これらの抗体は最初の変性段階（94℃・2min）で失活し、PCRに影響は及ぼしません。この改善により、非特異反応の主要因である「PCRの適温に達するまでの副反応」を大幅に抑えることができ、その結果、高い特異性と優れたPCRパフォーマンスを実現することが可能



となります（ホットスタート）。

KOD-Plus-Ver.2は、KOD-Plus-の反応bufferをさらに改良することにより、KOD-Plus-の長所はそのままに、高いリライアビリティを付与したDNA polymeraseです。PCRの確実性・成功率は、KOD-Plus-に比べ確実に向上しており、更に様々な用途で力を発揮します。

今回は、本酵素を用いてRT-PCRを実施した実験例をもとに、本酵素をご使用いただく上でのコツ・注意点を紹介させていただきます。

### 方法

RT反応は、HeLa Total RNAの希釈系列（10、50、100、200、300、400、500ng/μl）をサンプルとして、弊社の1st ストランドcDNA合成キットReverTra Ace -α®（Code No: FSK-101）を用いて、以下のように実施しました。なお、本キットの取扱い説明書では、Total RNAの推奨使用量は1μg

以下となっていますが、今回は、PCR反応におけるRNAの許容量をみるために50ng~2.5μgのRNAを使用しました。

PCR反応については、KOD-Plus-、KOD-Plus- Ver.2を以下の条件にて使用しました。また、PCR性能の比較のため、他社のHigh Fidelity PCR酵素を取扱い説明書に従って使用しました。

| 〈RT反応〉                                       |        |
|--|--------|
| HeLa Total RNAの希釈系列                          | 5 (μl) |
| Oligo (dT) <sub>20</sub> primer (10 pmol/μl) | 5      |
| RNase Free H <sub>2</sub> O                  | 2      |
| Total  | 12 μl  |
| ↓ 65℃, 5min後、on iceにて急冷                      |        |
| ↓ (以下の試薬を追加)                                 |        |
| 5×RT Buffer                                  | 4 (μl) |
| 10mM dNTPs                                   | 2      |
| RNase Inhibitor                              | 1      |
| ReverTra Ace® (10U/μl) 〈逆転写酵素〉               | 1      |
| Total  | 20 μl  |
| ↓ 42℃, 60min → 85℃, 5min → (4℃, ∞)           |        |
| ↓  |        |

| 〈PCR反応〉                               | KOD-Plus- | KOD-Plus- Ver.2 |
|---------------------------------------|-----------|-----------------|
| D.W.                                  | 32 (μl)   | 31 (μl)         |
| 10×Buffer for KOD-Plus-               | 5         |                 |
| 10×Buffer for KOD-Plus- Ver.2         |           | 5               |
| 2mM dNTPs                             | 5         | 5               |
| 25mM MgSO <sub>4</sub>                | 2         | 3               |
| Primer F (10μM)                       | 1.5       | 1.5             |
| Primer R (10μM)                       | 1.5       | 1.5             |
| 逆転写反応溶液                               | 2         | 2               |
| KOD-Plus- (1.0U/μl)                   | 1         | 1               |
| Total                                 | 50 μl     | 50 μl           |
| (サイクルは、KOD-Plus-、KOD-Plus-Ver.2共通で実施) |           |                 |
| 94℃, 2min.                            |           |                 |
| 98℃, 10sec. ←                         |           |                 |
| (Tm-5)℃, 30sec. ×25~35cycles          |           |                 |
| 68℃, Xmin (X: ターゲット鎖長1kbあたり1min. で設定) |           |                 |

結果及び考察

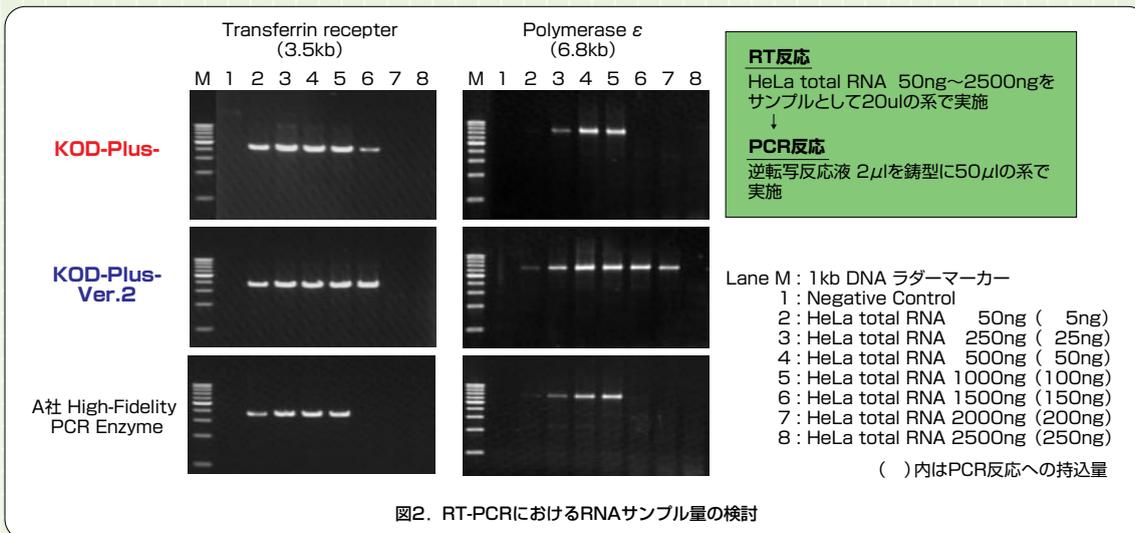


図2. RT-PCRにおけるRNAサンプル量の検討

今回、3.5kbと6.8kbの2種類の遺伝子をターゲットとしてRT-PCRを試みました。その結果、KOD-Plus-、及びKOD-Plus- Ver.2のいずれにおいても、エキストラバンドのない明瞭なバンドを得ることができました。特に、KOD-Plus- Ver.2では、より広いRNAの濃度幅で増幅が得られており、PCRが‘かかる’範囲が確実に広がっていることが確認できました(図2)。

一方、本結果から、過剰のRNAを用いて合成したcDNA溶液を鑄型とした場合、増幅産物が得られにくくなることも明らかとなりました。ターゲットにより若干の差はありますが、KOD-Plus-では~100ng、KOD-Plus- Ver.2では~150ng相当以下のRNAから得られたcDNA溶液を鑄型にした場合にのみ良好な増幅が得られました。この原因としては、PCR反応に持ち越された過剰のRNAによるPCR反応の阻害が疑われました(逆転写反応が阻害されていないことは別途確認済みです)。

図3は、ヒトゲノムDNAを鑄型としたPCRにおいて様々な濃度のTotal RNAを添加した場合の影響を示しています。この結果から、cDNA合成溶液に含まれる過剰のRNAはPCR効率に明らかに影響することが示唆されます。

過剰なRNAによるPCR阻害の原因としては、RNAがPCR反応に必要なMg<sup>2+</sup>をキレートするためと考えられます(RT反応は比較的高濃度のMg<sup>2+</sup>を含むbufferが使用されるため阻害は受けません)。

RT-PCR時に増幅が見られないことは良く見かけるトラブルの一つです。今回の結果から、そのような場合には、RNA濃度やcDNA溶液の持ち込み量を増やすより、むしろ、RT反応液の添加量を減らすか、Mg濃度を上げること

が有効な対策であると考えられます。また、発現量の少ない遺伝子をターゲットとする場合や、cDNAライブラリーの調製等で、やむを得ず大量のRNAを使用しなければならない場合には、Total RNAではなくpoly(A)<sup>+</sup>RNAを使用する、もしくはRT反応後に過剰の鑄型RNAをアルカリ加水分解等により除去することが有効であると思われます。

また、RNAによるPCR阻害は、図3の例のように、DNA鑄型に大量のRNAが混入している場合にも起こり得ますので、ゲノムDNAを鑄型とする場合においても、同様の注意が必要です。

クローニング用のRT-PCRも、コツさえつかめばそれほど難しい実験ではありません。これを機に、一度プロトコルを見直されてみてはいかがでしょうか？

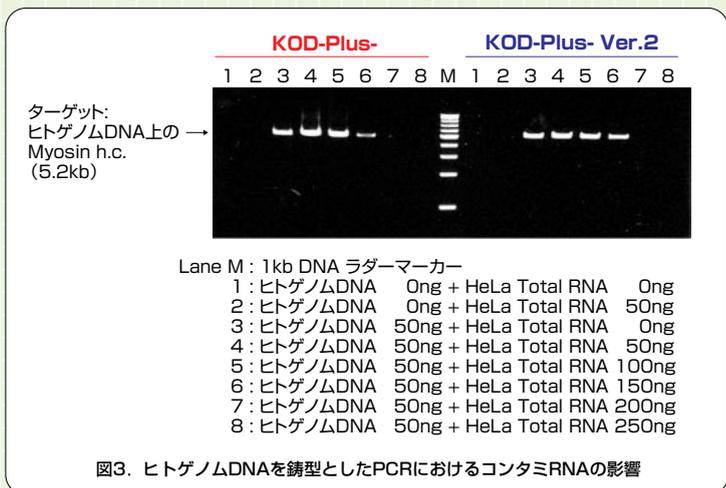


図3. ヒトゲノムDNAを鑄型としたPCRにおけるコンタミRNAの影響

関連商品

| 品名  | 包装                 | 保存温度 | Code No.            | 価格                 |
|---|--------------------|------|---------------------|--------------------|
| 逆転写酵素<br>ReverTra Ace® (100U/μl)                  | 10,000U<br>50,000U | -20℃ | TRT-101<br>TRT-102  | ¥15,000<br>¥60,000 |
| 1stストランドcDNA合成キット<br>ReverTra Ace-α®              | 100回用              | -20℃ | FSK-101             | ¥53,000            |
| High-Fidelity RT-PCRキット<br>ReverTra -Plus™        | 20回用<br>100回用      | -20℃ | PCR-501T<br>PCR-501 | ¥19,000<br>¥70,000 |
| KOD/KOD-Plus-用TAクローニングキット<br>TArget Clone™ -Plus- | 10回用               | -20℃ | TAK-201             | ¥16,000            |

# Product Selection Guide

本コーナーでは、シリーズで販売している試薬・キットを取り上げ、各用途に最も適した試薬の組み合わせ、使用方法、及びコツなどについて解説いたします。



## Can Get Signal®シリーズを用いる各種免疫アッセイ

免疫反応におけるシグナルの増強、及び特異性アップに効果があります。

### はじめに

Can Get Signal®シリーズは、ウェスタンブロットリングやELISA、免疫組織染色(IHC)、及び蛍光免疫染色など、抗原抗体反応を用いる解析でしばしば問題となる「感度不足」や「高いバックグラウンド」を改善するために開発された免疫アッセイ用の反応促進試薬です。本試薬は、特異性を保ちつつ、抗原-抗体反応を促進する効果があります。また、特に反応性が低い抗体ほど顕著な改善効果を示す傾向があることが確認されています。ご使用方法は、従来のTBS-Tなどの抗体反応用のバッファーを、本製品のバッファーに変更するだけです。

### 試薬の選択

ウェスタンブロットリングやドットブロットリング、ELISA等のアッセイ系では、**Can Get Signal®**を使用します。Can Get Signal®は1次抗体用のSolution 1と2次抗体用のSolution 2の2種類の溶液のセットとなっています。それぞれ1次抗体、2次抗体の反応液として使用します。標識酵素や色素を結合した一次抗体を用いる場合(直接法)は、Solution 2を用います。Solution 2は標識体由来する非特異凝集を起こりにくくする組成となっています。ただし、抗体や抗原の種類によっては、Solution 1を使用した方が良い結果を得られる場合もありますので、一度ご検討いただくことをお勧めします。また、サンドイッチELISAにおける固相抗体と抗原との反応時には、抗原の反応液としてSolution 1を使用します。

Solution 1とSolution 2は単品で購入することも可能です。

**Can Get Signal® immunostain**は、組織、細胞などの免疫染色において、より鮮明な染色像が得られるように最適化した姉妹品です。本品はSolution AとSolution Bの2種類の溶液からなります。これらの溶液は、それぞれが1次抗体用、および2次抗体用として使用可能です(それぞれ単品で使用します)。それぞれの溶液は、抗体や染色をするサンプルに対する反応性が異なります。実験により適した方を選択の上ご使用いただくようになっています。初回のご使用では、2種類の溶液がセットになった**Starter Set(NKB-401)**を用いて予備検討を行うことをお勧めします。

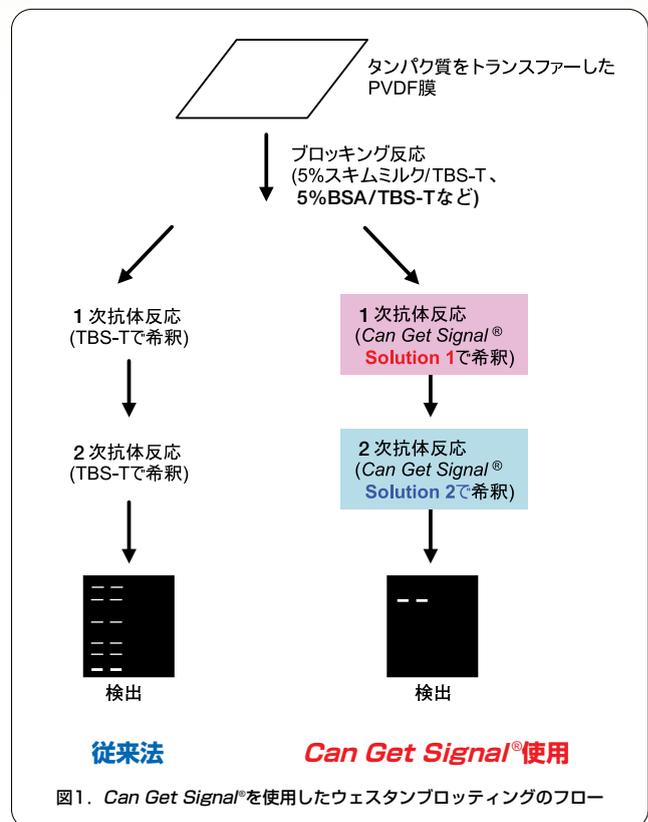


表1. 試薬選択の指標

| 商品名                         | 用途                                   | 使用可能な検出系    | 使用法   |
|-----------------------------|--------------------------------------|-------------|---|
| Can Get Signal®             | ウェスタンブロットリング<br>ドットブロットリング<br>ELISA等 | 発色、化学発光、蛍光等 | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ウェスタンブロットリング・ドットブロット(2種類の抗体を使用する場合)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution 1</b></li> <li>2次(標識)抗体反応 ⇒ <b>Solution 2</b></li> </ul> </li> <li>■サンドイッチELISA                             <ul style="list-style-type: none"> <li>固相抗体 ⇒ 炭酸バッファーなどで固定化</li> <li>抗原反応 ⇒ <b>Solution 1</b></li> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution 1</b></li> <li>2次(標識)抗体反応 ⇒ <b>Solution 2</b></li> </ul> </li> </ul> <p>※直接標識抗体を使用する場合<br/>標識抗体反応 ⇒ <b>Solution 2</b> (場合によって<b>Solution 1</b>)</p> |
| Can Get Signal® immunostain | 免疫染色(組織・細胞等)                         | 発色、化学発光、蛍光等 | <ul style="list-style-type: none"> <li>●パターン1                             <ul style="list-style-type: none"> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution A</b></li> <li>2次抗体反応 ⇒ <b>Solution A</b></li> </ul> </li> <li>●パターン2                             <ul style="list-style-type: none"> <li>1次抗体反応 ⇒ <b>Solution B</b></li> <li>2次抗体反応 ⇒ <b>Solution B</b></li> </ul> </li> </ul> <p>※初回使用時に両方の試薬をテストする</p>  |

使用法と結果

(1) ウェスタンブロッティング、ELISA等

電気泳動、膜へのトランスファー、及びブロッキングは、一般的なプロトコールに従います。(特に変える必要はありません)。抗原抗体反応に、**Can Get Signal®**を用います。(Can Get Signal®はブロッキングや洗浄には使用できませんので、ご注意ください)。具体的な使用方法は、表1の組み合わせに従います。図2に実施例を示しますが、Can Get Signal®を用いて抗体を希釈したものでは、非特異的な反応が非常に低く抑えられた上、ターゲットのバンドのシグナルも非常に明瞭で、高いS/N比でEGFRを検出することができました。

また、従来法でも十分にシグナルが得られていた系においても、Can Get Signal®と組み合わせることで、使用する抗体量を節約しつつ従来と同等以上のシグナルを得ることも可能です(図3)。また、非特異反応が特にしやすい実験系などでは、抗体反応時にCan Get Signal®にブロッキング剤を混合して使用することもできます。

(2) 免疫染色

サンプルとして、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)切片や、凍結切片、固定化した細胞など、さまざまな種類のものを用いることができます。固定化、賦活化、及びブロッキング等は従来と同じ方法で行います。また、ABC法などでのアビジン-ビオチン反応時も従来法に従います。

**Can Get Signal® immunostain**は抗体反応時の溶液としてのみ使用します。抗体濃度は、従来と同じ、もしくは薄めに設定します。更に、蛍光・発光による検出系においては、露光時間を短縮することによって、高いS/N比の像を効果的に得ることができることもあります(図4)。

従来、低い抗体力価による検出感度不足の問題は、添加する抗体濃度を高めることにより補われてきましたが、バックグラウンドや非特異染色が増加する原因ともなっていました。本製品の使用で抗原抗体反応を促進することにより、抗体量を増やすことなく従来より感度を上げることが可能です。今までご使用になられたことのない方、是非一度お試しください。

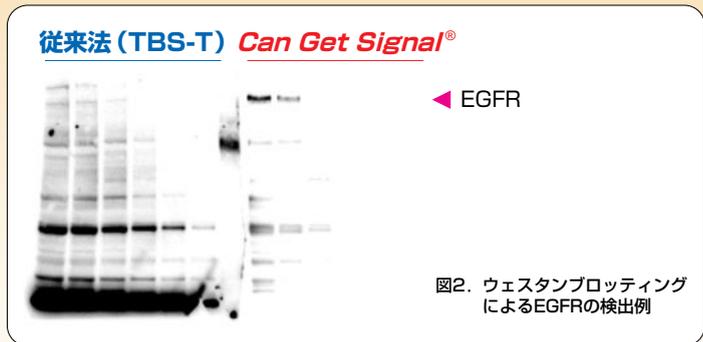


図2. ウェスタンブロッティングによるEGFRの検出例

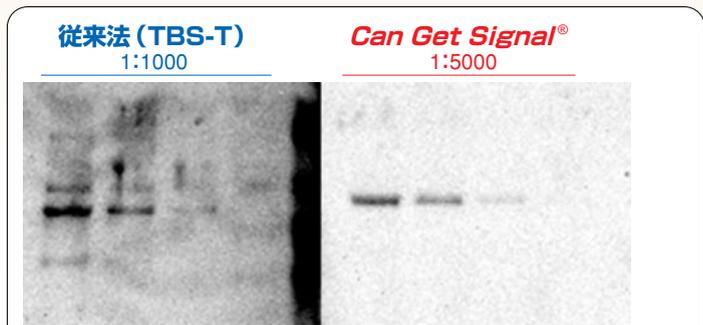


図3. His-ERK2タンパク質のウェスタンブロッティングによる検出例 (抗Hisタグ抗体使用)

従来法(1次抗体濃度 1:1000)では、特異的なバンドの出現は認められますが、バックグラウンドが高く、非特異バンドの出現や、マーカーへの強い非特異反応も見られます。一方、Can Get Signal®(1次抗体濃度 1:5000)使用時は、抗体量を1/5に減らすことで、同等の感度で、高いS/N比の結果を得ることができました。

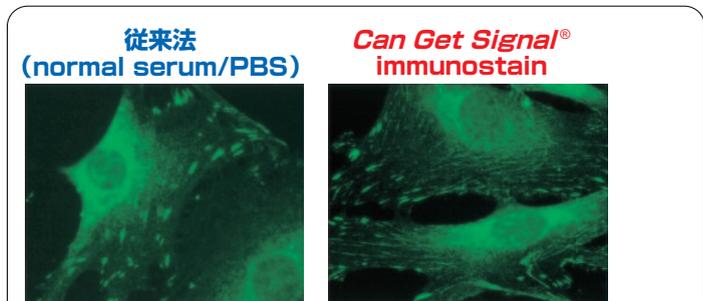


図4. Swiss 3T3細胞におけるPaxillinの蛍光染色

従来法と比べ、Can Get Signal® immunostainにおいては、シグナルが増強され、露光時間を短縮(3秒→1秒)することで、バックグラウンドの増加を抑えたS/N比の高い像を得ることができました。データ提供: 東京工業大学・原田伊知郎先生。

| 品名及び内容   | 包装      | 保存温度 | Code No. | 価格      |
|--|---------|------|----------|---------|
| <b>Can Get Signal®</b><br>Solution 1 (for primary antibody)                | 各250ml  | 4℃   | NKB-101  | ¥30,000 |
|  | 各50ml   |      | NKB-101T | ¥10,000 |
| <b>Can Get Signal®</b><br>Solution 1 (for primary antibody)                | 250ml   | 4℃   | NKB-201  | ¥17,000 |
| <b>Can Get Signal®</b><br>Solution 2 (for secondary antibody)              | 250ml   | 4℃   | NKB-301  | ¥17,000 |
| <b>Can Get Signal® immunostain</b><br>Starter Set Solution A<br>Solution B | 各5ml    | 4℃   | NKB-401  | ¥12,000 |
|  |         |      |          |         |
| <b>Can Get Signal® immunostain</b><br>Solution A                           | 20ml×1本 | 4℃   | NKB-501  | ¥30,000 |
|  | 20ml×4本 |      | NKB-502  | ¥70,000 |
| <b>Can Get Signal® immunostain</b><br>Solution B                           | 20ml×1本 | 4℃   | NKB-601  | ¥30,000 |
|  | 20ml×4本 |      | NKB-602  | ¥70,000 |

本製品はすでに販売を中止しております。

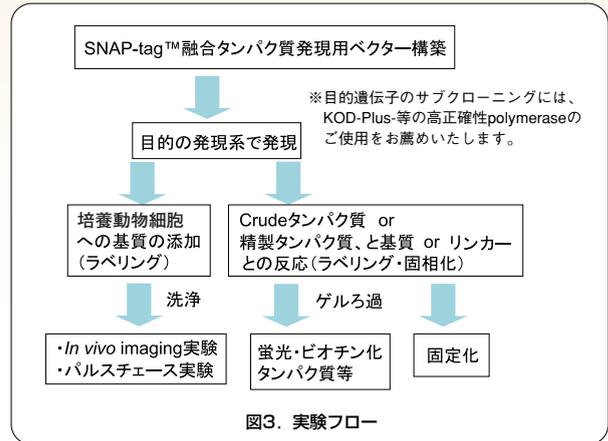
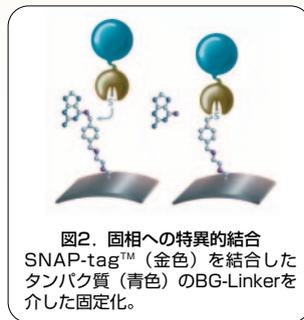
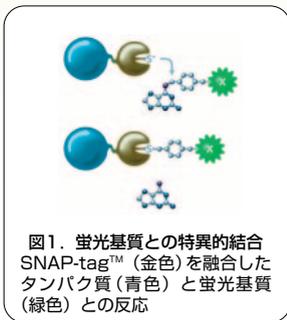
## SNAP-tag™

■詳細な実施例等はcovalys社のホームページ：  
http://www.covalys.com/でご覧いただけます。

一つのタグで様々な用途に用いることのできる万能タグです。様々な可能性を是非一度お試しください。

### はじめに

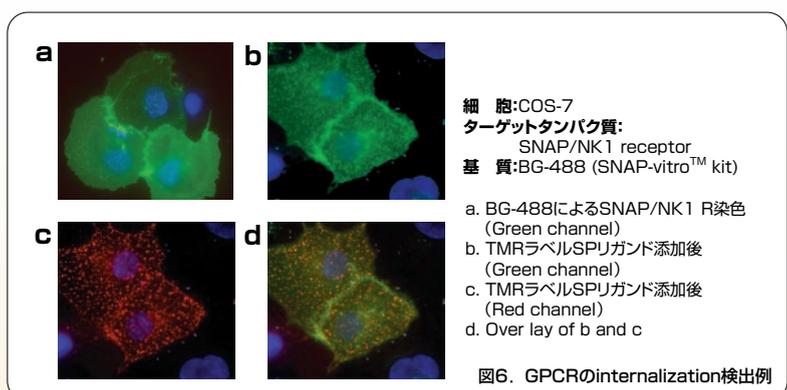
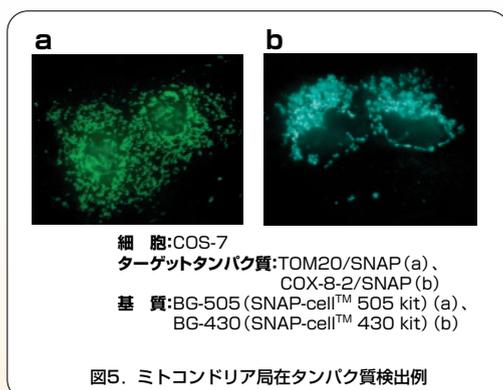
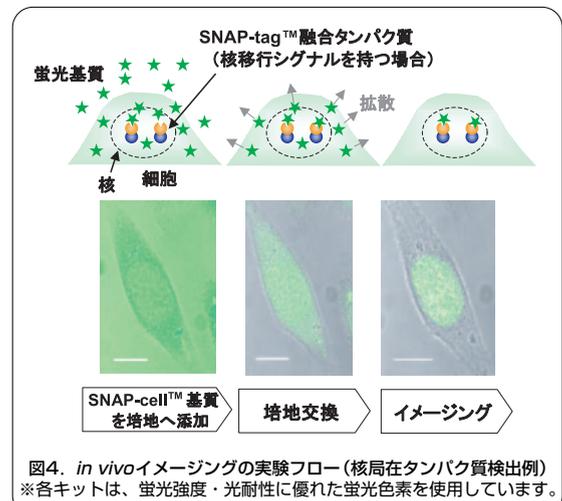
SNAP-tag™とは、Human O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase (hAGT) を遺伝子工学的手法により改良した約20kDaの酵素タグであり、ベンジルグアニン (BG) やクロロベンジルピリミジン基を有する人工基質と共有結合を介して結合する性質を有します。よって、人工の蛍光基質やリンカーを反応させることで目的タンパク質に蛍光を付加したり (図1)、固相へ固定化する (図2) ことができます。実験手法はいたってシンプルです (図3)。また、このタグはダイマー等を形成せず、また溶解性にも優れた特長を有しています。



### in vivo イメージング・パルスチェース実験

人工基質のうち、細胞への浸透性 (permeability) の良いものは細胞のin vivoイメージングやパルスチェース実験等に用いることができます (SNAP-cell™ kit)。細胞を用いたイメージング実験例を図4に示します。まず、培地中に基質を添加し、SNAP-tag™と酵素反応させます。その後、培地交換を行うことで未反応の蛍光基質を除去した後、目的のタンパク質に結合した基質を検出します。この反応で、その時点で発現していたSNAP-tag™融合タンパク質のみがラベルされます。よって、そのラベルを追跡するような実験に向きます (パルスチェース実験)。このような実験は、蛍光タンパク質を用いる実験では、恒常的にタンパク質発現がみられるため困難です。さらに、蛍光タンパク質と違って有機溶媒等で蛍光を失わない特長もあります。

図5にミトコンドリア局在タンパク質をBG-505 (緑)、及びBG-430 (青) にて検出した例を示します。さらに、例えば膜タンパク質の細胞外ドメインにSNAP-tag™を融合したような場合には、細胞浸透性が低いSNAP-vitro™用の基質であるBG-488 (緑) などを用いて染色することも可能です (図6)。この例では、GPCRの一種であるNK1リセプターを蛍光ラベルしておき、リガンド刺激によりインタナリゼーションを観察しています。SNAP-vitro™ kit用の基質は細胞浸透性が低いので、さらにバックグラウンドを抑えることが可能でした。



### in vitroラベリング

細胞浸透性のない基質は、*in vitro*ラベル用の基質として使用されます。**(SNAP-vitro™ Kit)** 現在、短波長から赤外域まで13種類の波長の基質が入手可能です。*in vitro*ラベル用の基質のうち、2種類はラベル後にSDS-PAGEなどで融合タンパク質を検出する際に有用であり、別途**SNAP-vista™ kit**として販売されています。SNAP-tag™の活性のチェックなどにも有効です。

これらのキットを用いた蛍光タンパク質の作製フローを図7に示します。ラベルされたタンパク質は、相互作用解析など、様々な用途に用いることが可能です。また、**BG-Biotin Kit**を用いてビオチン標識することも可能です。

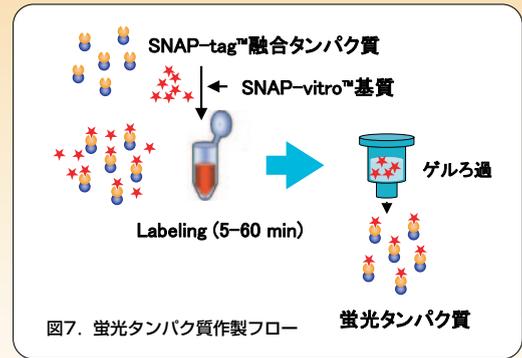


図7. 蛍光タンパク質作製フロー

### 固定化

種々の**リンカー**を用いることにより、タンパク質を固相に固定化することが可能です。この方法を用いて、表面プラズモン共鳴センサーなどでのタンパク質の固定化などに応用することができます。図8は、カルボキシル基を有する金チップの表面にアミノカップリング法を用いてBG-PEG-NH2を結合させ、使用した例を示しています。この実験では、この表面に種々のSNAP融合タンパク質を反応させ固定化した後に、それぞれ抗体を用いて検出を行いました。その結果、それぞれ特異的、かつ高感度に反応を検出することができました(図8)。Covalys社では、ここでご紹介した以外にも様々なリンカーを揃えており、webサイトでご参照いただけます。

さらに、BGリンカーを結合させたセファロースビーズ(**SNAP-Capture Resin-S**)を用いることで、固定化酵素実験や、プルダウン実験を行うことも可能です(図9)。

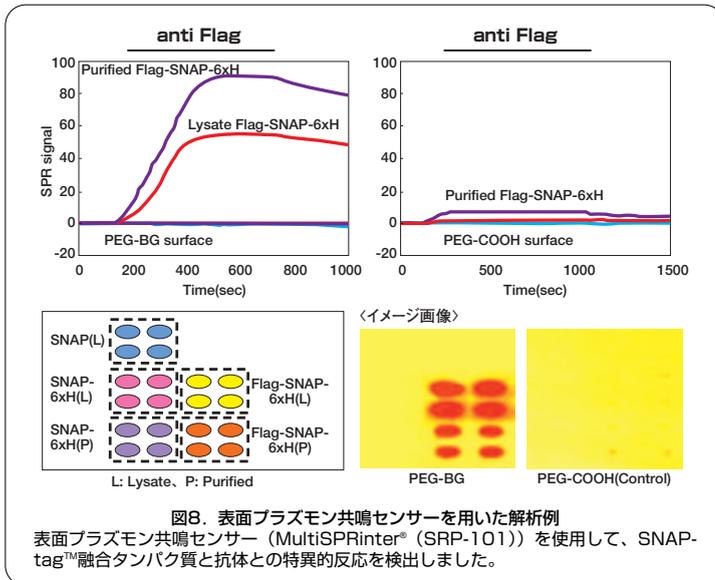


図8. 表面プラズモン共鳴センサーを用いた解析例  
表面プラズモン共鳴センサー (MultiSPRinter® (SRP-101)) を使用して、SNAP-tag™融合タンパク質と抗体との特異的反応を検出しました。

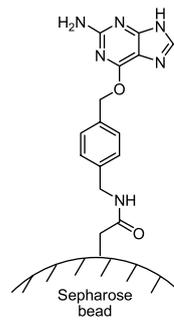


図9. SNAP-Capture Resin-Sの構造

### 参考文献

- 1) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**(27): 9955-9959(2004) <イメージング>
- 2) *Bio Techniques*, **39**(6): 809-812 (2005) <イメージング>
- 3) *Anal. Biochem.* **333**(2): 280-288 (2004) <SPR>

**2006年9月19日～12月29日までにSNAP-cell™ Trial kitを購入いただいた方全てに、SNAP-express Mammalian Stable Expression kitを無償添付いたします。**

- 2006年9月19日より、SNAP-cell™ TMR kit添付基質量及び推奨濃度が変わります。
- SNAP-block™ kitにさらに効果の期待できるSNAP block™ cell kitが追加されます。このキットは全てのSNAP-cell™シリーズに添付されます。従来のSNAP-block™ kitはSNAP-block™ vitro kitという名称に変わります。

| 品名及び内容                          | 備考   | 包装   | Code No. | 保存温度 | 価格      |
|---------------------------------|--|------|----------|------|---------|
| SNAP-cell™ 360 Starter Kit      | Ex357nm, Em437nm (DAPI filter) <青>             | 1kit | CVSK094  | -20℃ | ¥95,000 |
| SNAP-cell™ 430 Starter Kit      | Ex421nm, Em444, 487nm (Blue laser filter用) <青> | 1kit | CVSK072  | -20℃ | ¥95,000 |
| SNAP-cell™ 505 Starter Kit      | Ex504nm, Em532nm (fluorescence filter用) <緑>    | 1kit | CVSK003  | -20℃ | ¥95,000 |
| SNAP-cell™ TMR-Star Starter Kit | Ex554nm, Em580nm (rhodamine filter用) <赤>       | 1kit | CVSK039  | -20℃ | ¥95,000 |
| SNAP-cell™ Trial kit            | 505, TMRキット含有、コントロールプラスミド付*                    | 1kit | CVLK097  | -20℃ | ¥25,000 |
| SNAP-block™ cell Kit            | BTP (Bromothenly Pteridine)                    | 1kit | CVBK096  | -20℃ | ¥35,000 |
| BG-Biotin 100-Kit               | —  | 1kit | CVLK034  | -20℃ | ¥73,000 |
| SNAP-vitro™ 425 Starter Kit     | Ex438nm, Em489nm (405nm or 440nm laser用)       | 1kit | CVSK103  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 488 Starter Kit     | Ex506nm, Em526nm (fluorescein filter用)         | 1kit | CVSK005  | -20℃ | ¥78,000 |

価格改定  
しました  
NEW

NEW  
NEW

NEW

価格改定  
しました

| 品名及び内容  | 備考  | 包装    | Code No. | 保存温度 | 価格      |
|---|---|-------|----------|------|---------|
| SNAP-vitro™ 532 Starter Kit                     | Ex536nm, Em554nm (rhodamine filter 用)         | 1 kit | CVSK007  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 547 Starter Kit                     | Ex554nm, Em568nm (TAMRA or Cy3 filter用)       | 1 kit | CVSK041  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 600 Starter Kit                     | Ex606nm, Em626nm (Texas red filter 用)         | 1 kit | CVSK013  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 632 Starter Kit                     | Ex637nm, Em657nm (635nm diode laser 用)        | 1 kit | CVSK015  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 647 Starter Kit                     | Ex660nm, Em673nm (650nm diode laser 用)        | 1 kit | CVSK043  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 682 Starter Kit                     | Ex693nm, Em708nm (680nm diode laser 用)        | 1 kit | CVSK098  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 732 Starter Kit                     | Ex732nm, Em747nm (Cy7 filter用)                | 1 kit | CVSK074  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 747 Starter Kit                     | Ex752nm, Em763nm (Cy7 filter用)                | 1 kit | CVSK076  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-vitro™ 782 Starter Kit                     | Ex782nm, Em789nm (780nm laser 用)              | 1 kit | CVSK100  | -20℃ | ¥78,000 |
| SNAP-block™ vitro Kit                           | 今までのSNAP-block™ Kitに相当します                     | 1 kit | CVBK021  | -20℃ | ¥35,000 |
| SNAP-vista™ Blue 50-Kit                         | Ex390nm, Em470nm (UV transilluminator)        | 1 kit | CVLK011  | -20℃ | ¥25,000 |
| SNAP-vista™ Green 50-Kit                        | Ex500nm, Em524nm (488nm fluorescence scanner) | 1 kit | CVLK012  | -20℃ | ¥25,000 |
| SNAP-source plasmid pSS26b                      | SNAP-tag™配列切り出し用 (バクテリア細胞用)                   | 5μg   | CVPL022  | -20℃ | ¥21,000 |
| SNAP-source plasmid pSS26m                      | SNAP-tag™配列切り出し用 (哺乳類細胞用)                     | 5μg   | CVPL023  | -20℃ | ¥21,000 |
| SNAP-expression plasmid pSET7-26b               | バクテリア細胞用発現プラスミド**                             | 5μg   | CVPL024  | -20℃ | ¥52,000 |
| SNAP-express Mammalian Transient Expression kit | 哺乳類細胞用発現プラスミド (コントロール付)***                    | 1 kit | CVPL038  | -20℃ | ¥52,000 |
| SNAP-express Mammalian Stable Expression kit    | 哺乳類細胞用発現プラスミド (コントロール付)****                   | 1 kit | CVPL059  | -20℃ | ¥52,000 |
| SNAP Capture Resin-S                            | プルダウンアッセイ、固定化酵素用                              | 1 ml  | CVSK048  | -4℃  | ¥35,000 |
| SNAP Capture Resin-S                            | 同上  | 2.5ml | CVIM049  | -4℃  | ¥78,000 |

NEW

NEW

※本キットのパーツには、消防法における第4類第3石油類 (等級Ⅲ) であるジメチルスルホキシド (DMSO) が含まれます。可燃性がございますので、お取り扱いにはご注意ください。  
※それぞれ大容量キットを準備しております。また、別のリンカー類:BG-NH<sub>2</sub>、BG-PEG-Maleimide、BG-GLA、BG-PYN、BG-N<sub>3</sub>、BG-PEG-N<sub>3</sub>も取り揃えております。別途ごお問い合わせください。

※SNAP-tag™の研究用途での使用に際しましては書面での契約等は一切必要ありません。研究用途以外で使用する場合は弊社までお問い合わせください。

※使用する基質・リガンドをCovalys社以外で作製、入手する場合は別途ライセンス契約の必要があります。詳細につきましては弊社までお問い合わせください。

\*本製品にはコントロールプラスミドとして、pSEMS1-Cox8A-26mが供給されます。このプラスミドはSNAP-Tag™にミトコンドリア局在シグナルが付加されたタンパク質を発現します。コントロール実験に使用することが可能です。

\*\*SNAP-tag™の下流にマルチクローニングサイトがあり、N末端側にSNAP-tag™を融合することができます。本プラスミドの発現は、T7 RNA polymerase遺伝子を保有する大腸菌株を用いて行ってください。SNAP-tag™のcodon usagelはバクテリア型になっています。

\*\*\*SNAP-tag™の上流および下流にマルチクローニングサイトがあり、N末およびC末にSNAP-Tag™を融合することができます。CMVプロモーターを有しており、一過性発現用にお使いいただけます。SNAP-tag™のcodon usagelは哺乳類型になっています。また、本製品にはコントロールプラスミドとして、pSEMXT-26m-CaaXが供給されます。このプラスミドはSNAP-tag™に膜局在シグナルが付加されたタンパク質 (SNAP/CaaX) を発現します。コントロール実験に使用することが可能です。(9/19より内容が変更になりました)

\*\*\*\*SNAP-tag™の上流および下流にマルチクローニングサイトがあり、N末およびC末にSNAP-tag™を融合することができます。安定発現用にお使いいただけます。SNAP-tag™のcodon usagelは哺乳類型になっています。また、本製品にはコントロールプラスミドとして、pSEMS1-H2B 2mとpSEMS1-Cox8A-26mが供給されます。このプラスミドはSNAP-tag™に核局在シグナル、およびミトコンドリア局在シグナルが付加されたタンパク質を発現します。コントロール実験に使用することが可能です。

## みんなの広場

実験のコツ、成功・失敗例を募集し掲載する、お客様とのコミュニケーションのコーナーです。

### Reports

#### タンパクさん、ご冥福をお祈りいたします

匿名希望CKさん

2、3年前の話です。私が凝集傾向にあるタンパク質の精製を行っていた時にその事件は起こりました。ある日突然、精製の途中のタンパク質が姿を消したのです。本当にマジックのようでした。原因は不明。

翌日、考えられる全ての原因について考えました。そしてプロトコールに記載されている文字のうちの一文字、しかも大切な一文字を見落としていたことが判明しました。その文字は"m"。なんと、1mMではなく"1M"のメルカプトエタノールを使ってクロマト前のタンパク質を処理していたのです。当然、通常では考えられないミスです。しかし、追い詰められていた私は、朦朧とした意識の中でその恐ろしいバッファーを調製し、無意識のうちに私のタンパク質にとどめをさしていたのです。おそらく私のタンパク質は、還元剤の作用というよりも、強烈な有機溶媒としての作用で死んでいったに違いありません。

皆さん、桁の間違いより、単位の間違いは格段に致命的ですよ！パソコンの変換ミスで、μがmになったりすることも多いかと思えます。くれぐれもご注意ください。

受付は終了  
しております

➡ 募集要項が同封のアンケートの裏面にございます。奮ってご応募ください

## ●株式会社TMセルリサーチ商品に関してのご案内

弊社では再生医療及び細胞関連の開発を目的に子会社として株式会社TMセルリサーチを設立し、商品の開発・製造を行っておりましたが、諸事情により、今回、株式会社TMセルリサーチを解散、清算することとなりました。これに伴い、2006年8月1日より、その事業を東洋紡が引継ぎ、商品の供給を行っております。品質及び価格も従来どおり変わりなくご提供をさせていただきますので、皆様におかれましてはこれまでと変わりなく、ご愛顧の程、お願いいたします。

※該当商品につきましては、弊社2006/2007総合カタログ11-119をご参照願います。

## ●リコンビナントRNase inhibitor発売

ご好評いただいておりますRNase inhibitor (Native type)に加えて、この度、RNase inhibitor (Recombinant type)の販売を開始いたしました(2006/7/10～)。

従来品とあわせて、宜しくお願い申し上げます。

| 品名及び内容                        | 包装        | Code No. | 価格      |
|-------------------------------|-----------|----------|---------|
| RNase Inhibitor (Recombinant) | 2,500U×1本 | SIN-201  | ¥9,000  |
| RNase Inhibitor (Recombinant) | 2,500U×5本 | SIN-202  | ¥36,000 |

保存：-20℃

## ●私にもできた！ Vol.3 『ウェスタンブロッティング・ 免疫組織染色編』 発刊

ご好評いただいております本シリーズですが、『PCRを用いる遺伝子クローニング編』（2005年12月発刊）、『遺伝子発現解析編（前編）』（2006年4月発刊）に加えて、この度、『ウェスタンブロッティング・免疫組織染色編』を発刊いたしました。本シリーズは、弊社ホームページ：<http://www.toyoco.co.jp/bio>の「実験お助けコーナー」でご覧いただけます。

## ●AnaSpec社品の 価格を全面 改訂

ペプチド関連商品でご好評いただいておりますAnaSpec社品の価格を全面的に改定いたしました。さらにお求め安くなりましたので、これを機に是非一度お試しください。詳しくは弊社ホームページをご参照ください。

●本ページ掲載の試薬類は全て一般研究用の目的にのみ販売しており、医薬品、診断用医薬品、化粧品、食品用等には使用できませんので、十分ご注意ください。誤用による事故については、当社は一切の責任を負いません。  
●本ページ掲載商品には消費税は含まれておりません。実際のご購入価格については弊社代理店へお問い合わせください。  
●本ページ中の略号：  
☑印は毒物および劇物取締法に基づく医薬用外毒物です。  
☒印は毒物および劇物取締法に基づく医薬用外劇物です。  
☓印は消防法に基づく危険物です。