

# Wako

# Bio

# Window

<http://www.wako-chem.co.jp/>

2001. AUG.

## No.32

### C O N T E N T S

#### 遺伝子

Protein Express社 組み換えタンパク質受託発現サービス	p.2
Origene社のSmartArray™チップ	p.3
Invitex社の安価な高性能核酸抽出・精製キット	p.4
「Q&A」-アミラーゼ ウルトラピュア	p.7
ドクターウエスタン	p.8
EUROGENTEC社 DNAアレイ	p.9
N-G社 GMジャガイモ検知用オリゴヌクレオチド	p.9
(株)日本遺伝子研究所 遺伝子組換え食品のDNA受託検査	p.12

#### 発光

ピッカジーン	p.10
--------	------

#### 生理活性/蛍光

ジヒドロ ローダミン123塩酸塩	p.11
ローダミン123	p.11
ペプチド研 [Gly <sup>14</sup> ]-ヒューマニン	p.13
百日咳毒素	p.17
マストバラン	p.17

#### アポトーシス

MPI社 Vybrant Apoptosis Assay Kits	p.14
MPI社 EnzoChek Caspase-3 Assay Kits	p.16

#### 細胞増殖/細胞毒性

同仁化学 セルカウティング キット-WR/HS( for HTS )	p.18
PIERCE社 CellScreen™シリーズ	p.19

#### 病理

パソブレップ®546	p.12
------------	------

#### 免疫

genzyme TECHNE社	
ヒト AN'ALYZA BMP-4 イムノアッセイキット	p.20

#### お知らせ

MPI社 CD-ROM8版&Bioprobes No.37発行案内	p.16
ラボシート™ 50%OFF特価キャンペーン	p.17

# 組み換えタンパク質受託発現サービス

*Bacillus brevis*は、効率的な組み換えタンパク質の分泌発現システムです。タンパク質が菌体外に分泌され、正しくフォールディングされるため、活性型タンパク質が効率よく得られます。多量のタンパク質が培地中に蓄積されるため、効率よく精製を行うことができます。プロテイン・エクスプレス社では、発現トライアル、小スケール～大スケール（2L～700Lの発酵タンクまで）での組み換えタンパク質生産の3つの受託サービスを実施しています。

## 【*B. brevis* 分泌システムの特長】

- 培地中にタンパク質を大量に分泌。
- 培養が容易。
- 培養上清からの精製が容易。
- 培養上清中にほとんどプロテアーゼを分泌しないため、目的タンパク質の分解が起こりにくい。
- 菌株の安全性が高い。

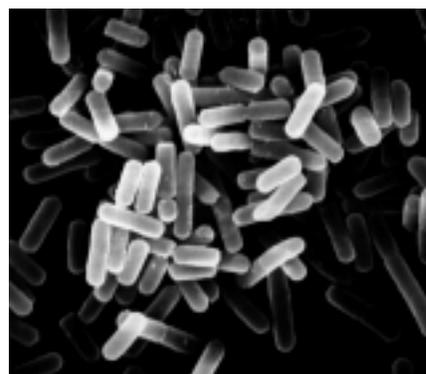
## 【サービス内容】

### 発現トライアルサービス

頂いたサンプルを用いた発現トライアルサービスです。

#### （内容）

- ▶ 発現ベクターの構築（プライマー合成、PCR、クローニング、シーケンス）
- ▶ *B. brevis* HPD31株の形質転換
- ▶ 小スケール培養試験。培養上清のSDS-PAGE（CBB染色およびWestern blot）による発現産物の確認
- ▶ 詳細なレポートと分析用サンプルの送付
- ▶ 分析用 2 ml～ 5 mlの培養上清サンプルの送付



*Bacillus brevis* 菌体

### 生産量向上研究サービス

発現トライアルサービスで得られた発現量を向上させる場合のサービスです。

#### （内容）

- ▶ 培養条件の検討：培地成分、培養温度の検討など。
- ▶ プラスミドの検討：pNCMO2とは異なった遺伝子発現調節領域、複製起点を持つプラスミドを使用して発現を試みる。
- ▶ 宿主菌の検討：*B. brevis* HPD31-S5とは異なる*B. brevis*株による発現。
- ▶ 融合タンパク質としての発現：分泌性の高いタンパク質との融合タンパク質として発現。

### 大量生産サービス

発現サービスで成功したサンプルの大量生産を行うサービスです。

#### （内容）

- ▶ プロテイン・エクスプレス社所有の各種の大量培養装置を用いて、2L、20L、120L、700Lスケールで培養することができます。培養は、高い生産量を確保するためにその都度十分な検討を加えています。

## 【*B. brevis*を用いたタンパク質の発現例】

由来	タンパク質	生産性
<b>微生物由来</b>		
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	thermostable- amylase	3.0 g/l
<i>Bacillus licheniformis</i>	thermostable- amylase	3.7 g/l
<i>Bacillus macerans</i>	CGTase	1.0 g/l
<i>Treponema pallidum</i>	antigen(TP47, TP17, TP47-17)	0.0-1 g/l
<b>真核生物由来</b>		
<i>Aspergillus oryzae</i>	taka- amylase A	22 mg/l
Flounder fish	growth hormon	150 mg/l
Bovine	Interleukin 1-	200 mg/l
Bovine	Tumor Necrosis Facto-	50 mg/l
Human	epidermal growth factor	1.5 g/l
Human	protein disulfide isomerase	1.0 g/l
<b>ウイルス由来</b>		
Hepatitis B virus	core antigen	100 mg/l
Hepatitis C virus	envelope protein(EGF fusion)	500 mg/l

【備考】価格および納期については、ご相談下さい。

WAKO BIO WINDOW係 E-mail : biowin@wako-chem.co.jp FAX : 06-6201-5965

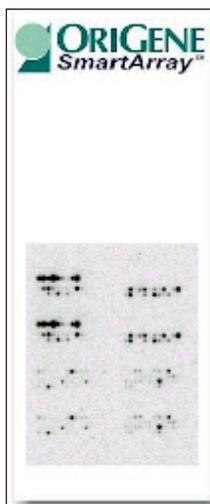
I.S.

ヒト、マウスの遺伝子発現プロファイリングに



## Origene社のSmartArray™チップ

SmartArray™チップは、特定の機能に關与する遺伝子群を、ニトロセルロース膜上にスポットし、さらに、ガラススライド上に貼り付けたDNAアレーです。限定された遺伝子を包括的にスポットしているため、一度の実験でキーとなる遺伝子の絞り込みが容易に行えます。



<sup>33</sup>P-dCTPでラベルした Human brain mRNAを用いて検出。

### 【特長】

- 関連性のある遺伝子を包括的にスポットニング。
- 専用チャンバーにより、少容量でのハイブリを実現。
- Cross Hybridizationを最小限に抑えるようにスポットDNAを設計。
- マウスから調製したプローブも使用可能。85%を超える相同性。
- Duplicate spot。
- 高品質( House keeping遺伝子の発現を確認 )

SmartSet 1のQCデータ



### 【セット内容】

SmartArray™ Chip	2枚
Hybridization Chamber	4枚
Seal( Hybridization Chamber用 )	1枚
Slidehyb™ Hybridization Buffer	4本

507-34211 ( NSAA-101 )	SmartSet™ 1	1セット	89,000円
遺伝子群:Nuclear Hormone Receptors(50)/Co-Regulators(63)/Secondary Co-Regulators(18) スポット数:140×2			
504-34221 ( HSAB-101 )	SmartSet™ 2	1セット	96,000円
遺伝子群:Homeobox/b-ZIP(91)/b-HLH Transcription Factors(56)/Proteins with helix-loop-helix motif(27) スポット数:183×2			
501-34231 ( TSAC-101 )	SmartSet™ 3	1セット	96,000円
遺伝子群:Tissue-specific and Inducible Transcription Factors(172) スポット数:181×2			
508-34241 ( PSAD-101 )	SmartSet™ 4	1セット	114,000円
遺伝子群:Tyrosine Kinases(73)/Phosphotyrosine Phosphatase(43)/SH2/SH3 Domain containing Proteins(129) スポット数:259×2			
505-34251 ( GSAE-101 )	SmartSet™ 5	1セット	131,000円
遺伝子群:G-Proteins(58)/G-Protein Coupled Receptors(181)/Regulators for G-Protein(79) スポット数:327×2			
502-34261 ( ISAF-101 )	SmartSet™ 6	1セット	98,000円
遺伝子群:Ion Channel Proteins(165) スポット数:174×2			
509-34271 ( XSAG-101 )	SmartSet™ 7	1セット	96,000円
遺伝子群:Transpoter Proteins(156) スポット数:156×2			
506-34281 ( MSAH-101 )	SmartSet™ 8	1セット	131,000円
遺伝子群:Proteinases(284)/Regulators for proteinases(56) スポット数:349×2			
503-34291 ( CSAI-101 )	SmartSet™ 9	1セット	114,000円
遺伝子群:Cytokines(121)/Chemokines(37)/Receptors(107) スポット数:174×2			
506-34301 ( ASAJ-101 )	SmartSet™ 10	1セット	96,000円
遺伝子群:Adhesion Molecules スポット数:178×2			

備考 ( )内は遺伝子数です。各チップは、9種類のHouse keeping遺伝子を含んでいます。平均500bpのcDNAが、50pg/スポット、約10<sup>6</sup>コピー/スポット含まれています。スポットはデュプリケートですが、隣接していません。

I.S.

プラスミドDNA・アガロースゲルからのDNA回収・PCR産物・RNAの精製に...  
**Invitek社の安価な高性能核酸抽出・精製キット**

Invitek社が提供するInvisorb™ ACNAE (Anti-Chaotropic Nucleic Acid Extraction) 技術は、カオトロピック塩を使用しない新しい核酸抽出法です。血液、組織あるいは糞便のような、複雑な生物サンプルからでも抽出可能で、最適化された条件下で、シリカなどの修飾担体へ核酸を結合させます。また、専用の修飾担体を使い分けることにより、異なる種類の核酸の選択的分離が実現可能になりました。

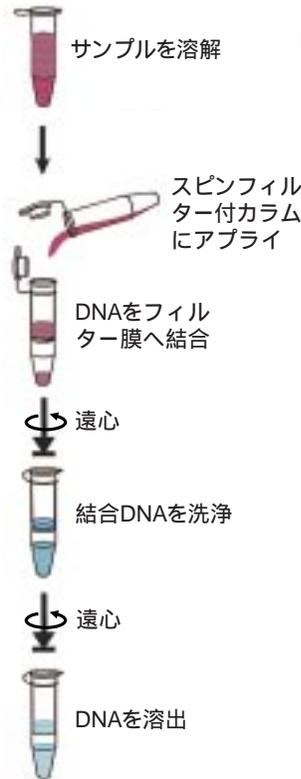


Invisorb® 96 Vacuum Manifold

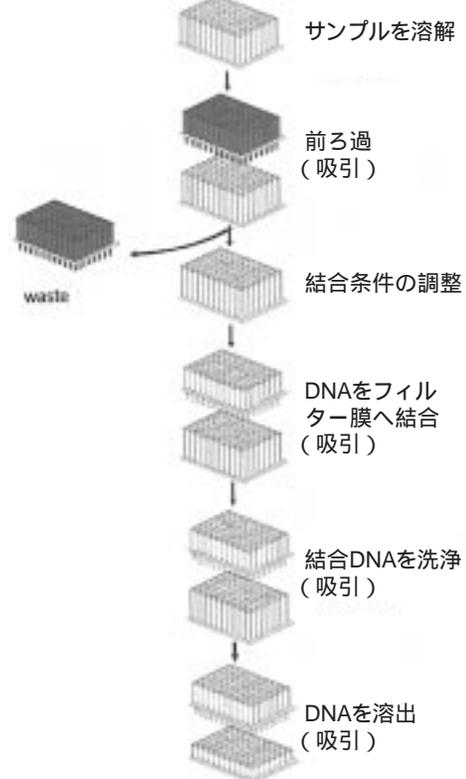
**【抽出・精製の基本操作】**

以下に示される溶解，結合，洗浄，溶出の確立されたマルチステップ精製によって、必要なDNAやRNAが得られます。

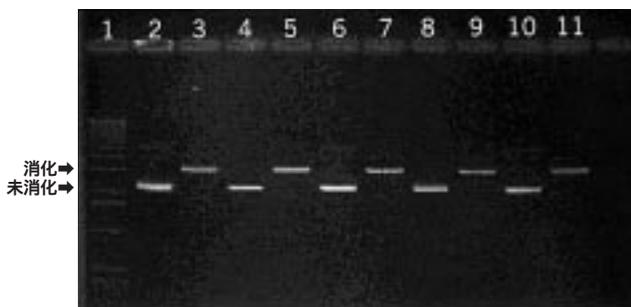
**スピнкаラムフォーマット**  
 (プラスミドDNA精製の場合)



**96ウェルプレートフォーマット**  
 (プラスミドDNA精製の場合)



**【使用例】** プラスミド *Hind* によるDNAの消化



Invisorb™ Spin Plasmid Mini Kitを用いて精製したプラスミドDNA (vector pGEM, in *E. coli* strain DH5) を *Hind* で消化した。制限酵素処理はそれぞれ1 μgのプラスミドDNAを用いて行った。消化および未消化のDNAを、1%TAEアガロースゲル電気泳動により分析した。

レーン1: 1kbラダーマーカー  
 レーン2,4,6,8,10: 未消化プラスミドDNA  
 レーン3,5,7,9,11: 消化プラスミドDNA



製品内容の詳細については、Invitek社カタログをご覧ください。

〔カタログ請求先〕 WAKO BIO WINDOW係  
 E-mail: biowin@wako-chem.co.jp FAX: 06-6201-5965

## 【特長】

スピカラム法、吸引法、パッチ法、96ウェルプレート法による抽出・精製法。

カオトロピック塩非存在下で、核酸を修飾された担体に結合。

最適化されたバッファーにより核酸結合の選択性が高い。

核酸を含むすべてのサンプルから抽出・精製可能。短時間で簡単な操作。

再現性よく高回収率で抽出・精製。

コンタミ物質を完全に除去。

毒物・有機溶媒非使用の安全な手法。

DNase消化なしでRNAを精製。

コードNo.	メーカーコード	品名	包装	希望納入価格(円)	適用サンプル
<b>シングルチューブ(スピカラム法 / 吸引法 / パッチ法)</b>					
<b>プラスミドDNAの抽出・精製</b>					
<b>プラスミドキット</b>					
504-32423	10101103	Invisorb™ Spin Plasmid Mini Kit	50 回分	9,000	バクテリア培養液0.5-2.0ml
502-32424	10101104		250 回分	33,500	
501-32433	10101202	Invisorb™ Plasmid Midi Kit ( Vacuum Format )	24 回分	28,000	バクテリア培養液(高コピー) 10-25ml バクテリア培養液(低コピー) 100ml 別売のInvisorb™ 96 Vacuum Manifoldが必要
509-32434	10101203		48 回分	49,500	
508-32443	10101302	Invisorb™ Plasmid Maxi Kit ( Vacuum Format )	12 回分	18,000	バクテリア培養液(高コピー) 100ml バクテリア培養液(低コピー) 250ml 別売のInvisorb™ 96 Vacuum Manifoldが必要
<b>DNA断片の抽出・精製</b>					
<b>PCR産物精製キット</b>					
505-32453	10202003	Invisorb™ Spin PCRapid Kit	50 回分	10,000	PCR産物 酵素反応液100μl
503-32454	10202004		250 回分	36,000	
<b>ゲルDNA抽出キット</b>					
502-32463	10201102	Invisorb™ Spin DNA Extraction Kit	50 回分	10,000	TAE/TBEアガロースゲル400mg
500-32464	10201103		250 回分	36,000	
509-32473	10201002	Invisorb™ DNA Extraction Kit ( Batch Format )	100 回分	13,500	TAE/TBEアガロースゲル400mg
507-32474	10201003		250 回分	23,500	
<b>ゲノムDNAの抽出・精製</b>					
<b>全血キット</b>					
506-32483	10311002	Invisorb™ Spin Blood Mini Kit	50 回分	17,000	新鮮・凍結・乾燥全血 血清 パフィーコート1-200μl
504-32484	10311003		250 回分	60,000	
503-32493	10311103	Invisorb™ Spin Blood Midi Kit	50 回分	35,000	新鮮・凍結・乾燥全血 血清 パフィーコート200μl-2ml
501-32494	10311104		250 回分	157,000	
506-32503	10311202	Invisorb™ Spin Blood Maxi Kit	25 回分	35,000	新鮮・凍結・乾燥全血 血清 パフィーコート1-10ml
504-32504	10311203		50 回分	63,000	
503-32513	10311302	Invisorb™ Blood Giga Kit ( Batch Format )	50 回分	54,000	新鮮・凍結・乾燥全血 血清 パフィーコート5-20ml
501-32514	10311303		100 回分	97,000	
<b>動物組織キット</b>					
500-32523	10321002	Invisorb™ Spin Tissue Mini Kit	50 回分	15,000	新鮮・凍結動物組織 マウスの尾 /パラフィン包埋組織1-40mg
508-32524	10321003		250 回分	67,000	
507-32533	10321102	Invisorb™ Spin Tissue Midi Kit	25 回分	25,000	新鮮・凍結動物組織 マウスの尾 /パラフィン包埋組織30-100mg
505-32534	10321103		50 回分	45,000	
<b>細胞キット</b>					
504-32543	10331003	Invisorb™ Spin Cell Mini Kit	50 回分	15,000	培養細胞 新鮮・凍結酵母 バクテリア2×10 <sup>6</sup> 個 血漿 血清100μl
502-32544	10331004		250 回分	67,000	
<b>植物組織キット</b>					
501-32553	10371002	Invisorb™ Spin Plant Mini Kit	50 回分	16,000	新鮮・凍結植物組織100mg (湿重量) 乾燥植物組織60mg
509-32554	10371003		250 回分	73,500	
508-32563	10371102	Invisorb™ Spin Plant Midi Kit	25 回分	25,000	新鮮・凍結植物組織500mg (湿重量) 乾燥植物組織300mg
506-32564	10371103		50 回分	45,000	
<b>食物キット(動物性 &amp; 植物性)</b>					
505-32573	10361002	Invisorb™ Spin Food Kit	50 回分	17,000	動物性の新鮮・加工・保存食品40mg
503-32574	10361003		250 回分	67,000	
502-32583	10361102	Invisorb™ Spin Food Kit	50 回分	22,000	植物性の新鮮・加工・保存食品40mg
500-32584	10361103		250 回分	73,500	
<b>糞便DNAキット</b>					
509-32593	10381002	Invisorb™ Spin Stool DNA Kit	50 回分	25,000	新鮮・凍結糞便200-300mg
507-32594	10381003		250 回分	110,000	
<b>スワブキット</b>					
502-32603	10351002	Invisorb™ Spin Swab Kit	50 回分	17,500	スワブ(口内 鼻内 咽頭目) 2×10 <sup>6</sup> 個細胞 唾液100μl
500-32604	10351003		250 回分	67,000	

コードNo.	メーカーコード	品名	包装	希望納入価格(円)	適用サンプル
<b>ゲノムDNAキット(組織 &amp; 細胞)</b>					
509-32613	10321202	Invisorb™ Genomic DNA Kit ( Batch Format )	25 回分	9,000	新鮮・凍結動物組織 ,マウスの尾 パラフィン包埋組織0.5-40mg
507-32614	10321203		100 回分	25,000	
506-32623	10331102	Invisorb™ Genomic DNA Kit ( Batch Format )	25 回分	9,000	培養細胞 新鮮・凍結酵母 / バクテリア2×10 <sup>6</sup> 個 血漿 血清100μl
504-32624	10331103		100 回分	25,000	
500-32626	10331104		250 回分	50,000	
<b>法医学キット</b>					
503-32633	10341002	Invisorb™ Forensic Kit ( Batch Format )	50 回分	22,000	法医学的サンプル/血痕 歯 毛根 精子 チューインガム 切手など
501-32634	10341003		100 回分	39,500	
<b>ゲノムDNA / Total RNAの並行抽出・精製</b>					
<b>細胞DNA/RNA並行分離キット</b>					
500-32643	10704002	Invisorb™ TwinSpin Cell Mini Kit	50 回分	29,500	新鮮培養細胞1×10 <sup>6</sup> 個
508-32644	10704003		250 回分	118,000	
507-32653	10703002	Invisorb™ Twinprep DNA/RNA Kit ( Batch Format )	25 回分	14,500	新鮮培養細胞5×10 <sup>6</sup> 個 新鮮動物組織50mg
505-32654	10703003		50 回分	26,000	
<b>Total RNAの抽出・精製</b>					
<b>細胞RNAキット</b>					
504-32663	10605002	Invisorb™ Spin Cell RNA Mini Kit	50 回分	22,000	新鮮培養細胞1×10 <sup>7</sup> 個 新鮮酵母1×10 <sup>9</sup> 個 / バクテリア5×10 <sup>7</sup> 個
502-32664	10605003		250 回分	94,000	
501-32673	10605102	Invisorb™ Spin Cell RNA Midi Kit	25 回分	35,000	新鮮培養細胞2.5×10 <sup>7</sup> -1×10 <sup>8</sup> 個 新鮮酵母 / バクテリア
509-32674	10605103		50 回分	63,000	
<b>植物RNAキット</b>					
508-32683	10608002	Invisorb™ Spin Plant RNA Mini Kit	25 回分	14,500	新鮮植物組織100mg 新鮮植物細胞 糸状菌1×10 <sup>7</sup> 個
506-32684	10608003		50 回分	26,500	
<b>RNAキット</b>					
505-32693	10601003	Invisorb™ RNA Kit ( Batch Format )	50 回分	13,000	真核細胞10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup> 個 酵母 / バクテリア10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup> 個 血漿 血清100μl 組織0.5-1mg
503-32694	10601004		100 回分	23,000	
508-32703	10602003	Invisorb™ RNA Kit ( Batch Format )	50 回分	18,000	真核細胞10 <sup>6</sup> -10 <sup>8</sup> 個 酵母 / バクテリア10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup> 個 血漿 血清500μl 組織5mg-1g
506-32704	10602004		100 回分	32,000	
<b>エンテロウイルスRNAキット</b>					
505-32713	10604002	Invisorb™ Enterovirus RNA Kit ( Batch Format )	50 回分	25,000	糞便100mg
503-32714	10604003		100 回分	45,000	
<b>96ウェルプレート</b>					
<b>プラスミドキット / 吸引法</b>					
504-32761	70101102	Invisorb™ Plasmid HTS 96 Kit/V-Starting Kit	2×96 回分	98,000	バクテリア培養液0.5-2.0 ml/well
501-32771	70103101		1×96 回分	35,000	
507-32773	70103102	Invisorb™ Plasmid HTS 96 Kit/V	2×96 回分	60,000	バクテリア培養液0.5-2.0 ml/well 別売のInvisorb™ 96 Vacuum Manifoldが必要
505-32774	70103103		4×96 回分	108,000	
501-32776	70103104		24×96 回分	540,000	
<b>PCR産物精製キット / 吸引法</b>					
506-32841	70211102	Invisorb™ PCR HTS 96 Kit/V-Starting Kit	2×96 回分	87,000	PCR産物 酵素反応液200μl
503-32851	70213101		1×96 回分	24,000	
509-32853	70213102	Invisorb™ PCR HTS 96 Kit/V	2×96 回分	42,000	PCR産物 酵素反応液200μl 別売のInvisorb™ 96 Vacuum Manifoldが必要
507-32854	70213103		4×96 回分	75,000	
503-32856	70213104		24×96 回分	375,000	
<b>細胞RNAキット / 吸引法</b>					
508-32921	70611102	Invisorb™ RNA HTS 96 Kit/V-Starting Kit	2×96 回分	98,000	新鮮培養細胞50-5×10 <sup>5</sup> 個
505-32931	70613101		1×96 回分	45,000	
501-32933	70613102	Invisorb™ RNA HTS 96 Kit/V	2×96 回分	80,000	新鮮培養細胞50-5×10 <sup>5</sup> 個 別売のInvisorb™ 96 Vacuum Manifoldが必要
509-32934	70613103		4×96 回分	145,000	
505-32936	70613104		24×96 回分	790,000	
<b>吸引マニホールド</b>					
504-33001	50102100	Invisorb™ 96 Vacuum Manifold	1 個	56,000	Plasmid Midi Kit ,Plasmid Maxi Kit , Plasmid HTS 96 Kit PCR HTS 96 Kit RNA HTS 96 Kitに対応

ロボット対応(Beckman Coulter Canberra Packard Qiagen用)および遠心法96ウェルプレートキットにつきましては、当社代理店あるいは当社営業員にお問い合わせ下さい。

I.T.

多糖類の夾雑でお困りの方に...



## -アミラーゼ ウルトラピュア

-アミラーゼは、-1,4-グルコシド結合を加水分解する酵素です。本酵素の最適pHは5~9と広く、かつ耐熱性を有することから様々な反応条件でお使いいただけます。また、本品はDNaseやDNAをほとんど含まない高純度の -アミラーゼ溶液です。発現菌体由来のDNaseによる試料中のDNAの分解やゲノムDNAのコンタミが少なく安心してお使いいただけます。本品は試料中のデンプンを効率的に液化することから、従来抽出が困難であった多く含む試料からのDNA抽出に非常に有用です。

抽出バッファーを別途ご用意しておりますので、必要に応じてお求め下さい。

### 【形状】

10mM Tris-HCl (pH8.0), 10mM CaCl<sub>2</sub>, 50% Glycerol

### 【保存】

• -Amylase Ultrapure : -20 (凍結不可)

• 1x -Amylase Ultrapure Buffer : 室温

### 【使用法】コーンを原料としたスナックからのDNA抽出例

#### 液体窒素により粉碎したスナック0.8g

1x -Amylase Ultrapure Buffer 8ml

2M CaCl<sub>2</sub> 40μl

-Amylase Ultrapure 200units

撹拌

90~100 30分間(10分毎によく撹拌)

↓ 10,000 x g 10分間

上清

↓ オープンカラム精製

DNA

### 【酵素反応条件】

30mM Tris-HCl (pH8.0), 500mM NaCl, 10mM

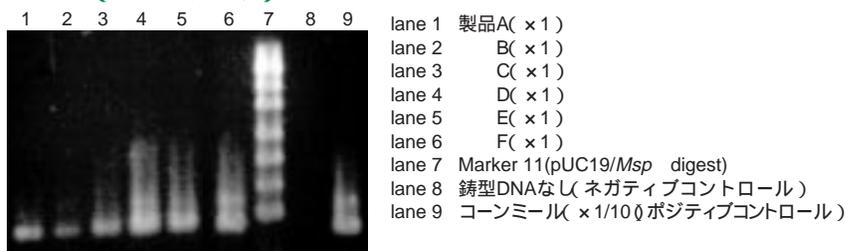
CaCl<sub>2</sub>, 5M Urea, 5% Tween 20, 0.5% Triton X-100

### 【活性】4~10units/μl

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
316-04751	-Amylase Ultrapure	4,000units	23,000
312-04753	-Amylase Ultrapure	20,000units	80,000
313-04761	1x -Amylase Ultrapure Buffer(2M CaCl <sub>2</sub> 2.5ml添付)	500ml	12,000

### 【使用例】 -アミラーゼ ウルトラピュアを添加して抽出したDNAを用いたPCR

#### コーン(コーンスナック) Zein遺伝子の検出



#### Q 酵素の由来菌株は何ですか？

A *Bacillus subtilis* です。

#### Q 菌体由来のゲノムDNAやDNaseの混入のチェック方法は？

A 品質管理試験における純度試験を実施しています。  
 ・DNase試験：酵素 30unitsと1μgの *Hind* III を37℃で16時間反応させた後、アガロースゲル電気泳動を行った結果、泳動パターンに変化は認められない。  
 ・DNAコンタミ試験：PCRを用いたDNAコンタミ量の検定試験を行い、菌体由来のDNAが1ng以下であることを保証しております。

#### Q 酵素の活性定義は何ですか？

A よう素呈色法を用い、緩衝液のみの反応をコントロールとして、酵素液の青紫色の呈色が1%低下する酵素量を1ユニットと定義しています。

#### Q なぜ、酵素に反応バッファーが添付されていないのですか？

A 反応バッファー中に、Ca<sup>2+</sup>が存在することで安定化しますので、特に専用の反応Bufferの必要ないためです。しかし、ニッポンジーン社で、酵素活性を促進する物質を添加した1x -Amylase Ultrapure Bufferは別売しております。

#### Q PCRにて目的遺伝子が増幅しないのですがどうすればよいでしょうか？

A サンプル量を増量するなど、PCR条件を検討して下さい (Template量、サイクル数など)。

#### Q 加工食品より抽出したDNAをアガロースゲル電気泳動でバンドを検出できなかったのですが...

A 加工食品に含まれるDNA量は非常に微量であるため、サンプルによってはバンドを検出できないことがあります。

#### Q 米粒や果肉などのサンプルに応用できますか？

A 検討しておりません。

I.S.



ウエスタンブロット用MWマーカー

# ドクターウエスタン



オリエンタル酵母工業株式会社

IgGと特異的に結合。メンブレンやX線フィルム上で分子量マーカーを確認できます！

Dr.Westernは、IgGと特異的に結合する性質をもった新規のウエスタンブロット用に開発されたタンパク質分子量マーカーです。最終的にメンブレンやX線フィルム上にバンドを検出することができるため、分子量の算出やウエスタンブロットの正否のチェックが容易に行えます。本品には15k~82kまでの6種類のサイズマーカーが入っています。



## 【実験例】

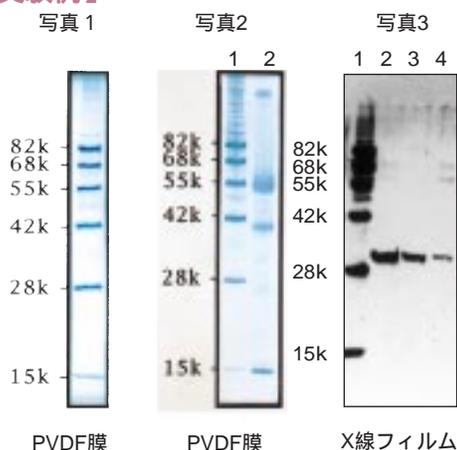


写真1 Dr.Western(2μl/レーン,300ng)  
一次抗体: 抗オポアルブミン抗血清[ウサギ] (1/2,500希釈)  
二次抗体: ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギ gG (1/3,000希釈)

写真2 1: Dr.Western(2μl/レーン,300ng)  
2: 組み換えヒトアラニンアミノトランスフェラーゼ(r-hALT) 部分精製品0.1μg/レーン  
一次抗体: 抗-r-hALTモノクローナル抗体(10μg/ml)  
二次抗体: ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗マウス gG (1/3,000希釈)

写真3 Lane 1: Dr.Western(75ng)  
Lane 2: 625ng  
Lane 3: 125ng  
Lane 4: 25ng  
サンプル: rGFP(組み換えGFP)  
一次抗体: Anti-GFP,mAb(11E5)(×2,000)  
二次抗体: HRP anti-mouse gG,Rabbit(×2,000)  
PVDF膜(Immobilon-P)  
検出: ImmunoStar™ Kit for Rabbitにより行った。  
1分間露光

## 【キット内容】(100回分)

Dr. Western 200μl (40μl × 5tube)

【分子量】81,807、68,406、55,004、41,603、28,201、14,800(Da)

【濃度】0.05μg / 2μl (各タンパク質あたり)  
0.3μg / 2μl (総タンパク質)

【形状】62.5mM Tris/HCl(pH6.8) 2% SDS/5% glycerol / 0.005% Bromophenol Blue

【使用量】免疫染色 : 2μl/lane  
CBB染色 : 10μl/lane

## 【取扱上の注意】

- 1) 室温で完全に融解してから使用して下さい。
- 2) 免疫ブロッティングの場合、低分子のバンドの染色性は他のバンドと比べて低くなります。
- 3) アプライ前にボイルする必要はありません。

【保存】-20

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
304-51663	Dr.Western(ドクターウエスタン)	40μl(20回分)	5,000
308-51661		40μl×5(100回分)	20,000

## 【参考文献】

- 1) Kihira, Y. et al.: *J. Chromatogr.*, 597, 277-283(1992)
- 2) Laemmli, U. K.: *Nature*, 227, 680-685(1970)
- 3) Kihira, Y. et al.: *Urol. Oncol.*, 2, 20-26(1996)

「化学発光におけるDr.Westernの最適濃度の検討」は、WAKO BIO WINDOW No.16の4頁1999をご参照下さい。「Dr.WesternのQ&A」は、WAKO BIO WINDOW No13の14,15頁(1998)をご参照下さい。

I.S.

遺伝子発現パターンの機能解析に...

## DNAアレイ

ニッポンジーンでは、EUROGENTEC(ユーロジェンテック)社のDNAアレイを取り扱っております。

製造元 EUROGENTEC社  
輸入元 ニッポンジーン



生物種	ORFs	製品形態	共同研究先	備考
<i>Bacillus subtilis</i>	4,096	スライドガラス ナイロンメンブレン(2枚)	1,2	
<i>Helicobacter pylori</i>	1,600	スライドガラス ナイロンメンブレン	3	
<i>Neisseria meningitidis</i>	2,080	スライドガラス ナイロンメンブレン	4	
<i>Neisseria meningitidis</i> Z2491 + MC58	2,191	スライドガラス ナイロンメンブレン	4	
<i>Candida albicans</i>	2,000	スライドガラス ナイロンメンブレン	3	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6,168	スライドガラス		新プライマー使用
<i>Drosophila melanogaster</i>	22,000		1	秋頃発売予定

### 【共同研究先】

- 1)ドイツ癌センター：DKFZ, Heidelberg
- 2)フランス農務水産省 国立農学研究院：INRA, Jouy'en Josas
- 3)パスツール研究所：Pasteur Institute, Paris
- 4)フランス雇用労組省 保健医療研究局：INSERM, Paris

各製品共にPCRプライマーセット及び標識用プライマーセットをご用意しています。  
PCRプライマーセット：各2nmol, 96穴プレート  
標識用プライマーセット：各5pmol, 1チューブ

ナイロンメンブレン：12×8cmのナイロンメンブレンにダブルスポットされています。  
スライドガラス：アミノシランコートされたスライドガラスにダブルスポットされています。

〔問い合わせ先〕  
WAKO BIO WINDOW係  
E-mail：biowin@wako-chem.co.jp  
FAX：06-6201-5965

## GMO検知用試薬

GMジャガイモ検知用オリゴヌクレオチドを新発売しました！



コードNo.	製品名	内容	濃度	容量	包装単位	希望納入価格(円)
312-05191	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Plusオリゴヌクレオチド	p-FMV02-5' PLRV01-3'	50μM 50μM	30μl 30μl	1set (各1,500pmol)	12,000
318-05193	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Plusオリゴヌクレオチド	p-FMV02-5' PLRV01-3'	50μM 50μM	90μl 90μl	1set (各4,500pmol)	24,000
315-05201	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Plus確認用オリゴヌクレオチド	PLRV-rep1-5' PLRV-rep1-3'	50μM 50μM	30μl 30μl	1set (各1,500pmol)	12,000
311-05203	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Plus確認用オリゴヌクレオチド	PLRV-rep1-5' PLRV-rep1-3'	50μM 50μM	90μl 90μl	1set (各4,500pmol)	24,000
312-05211	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Yオリゴヌクレオチド	p-FWV05-5' PVY02-3'	50μM 50μM	30μl 30μl	1set (各1,500pmol)	12,000
318-05213	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Yオリゴヌクレオチド	p-FWV05-5' PVY02-3'	50μM 50μM	90μl 90μl	1set (各4,500pmol)	24,000
319-05221	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Y確認用オリゴヌクレオチド	PVY01-5' PVY01-3'	50μM 50μM	30μl 30μl	1set (各1,500pmol)	12,000
315-05223	GMジャガイモ系統別DNA New leaf Y確認用オリゴヌクレオチド	PVY01-5' PVY01-3'	50μM 50μM	90μl 90μl	1set (各4,500pmol)	24,000
316-05231	ジャガイモ内在性DNA Pssオリゴヌクレオチド	Pss 01n-5' Pss 01n-3'	50μM 50μM	30μl 30μl	1set (各1,500pmol)	12,000
312-05233	ジャガイモ内在性DNA Pssオリゴヌクレオチド	Pss 01n-5' Pss 01n-3'	50μM 50μM	90μl 90μl	1set (各4,500pmol)	24,000

GMトウモロコシCBH351系統検知用プラスミド及びGMジャガイモ検知用プラスミドは近日発売予定です。  
GMトウモロコシ、GMダイズ検知用オリゴヌクレオチドとプラスミドの製品リストにつきましては、  
WAKO BIO WINDOW No.31の2頁(2001)をご覧ください。  
<http://www.kongo.co.jp/npgene/gmdetect.html>参照。

ルシフェラーゼアッセイのスタンダード試薬

# ピッカジーン(PicaGene®)



## 国内生産、だから安心

ラジオアイソトープを用いたCATアッセイに代わるレポーター遺伝子アッセイに向け、“高感度”、“迅速”、“簡便”、“安全”、“低コスト”を武器に日本で初めての本格的なルシフェラーゼアッセイ試薬として1991年投入した「ピッカジーン(PicaGene®)」。

プロモーターなどによる転写活性の測定をベースに着実に用途が拡がり、販売から10年が経った現在、ポスト・ヒトゲノムプロジェクトの一翼としての遺伝子機能の解析を始め、製薬メーカーによるゲノム創薬、細胞膜受容体やシグナルトランスダクションの解析、環境ホルモンの活性測定など、ルシフェラーゼアッセイの拡がりに呼応しながら「ピッカジーン」はその発光性能や使い勝手に磨きをかけて進化して参りました。

1997年より国内の東洋インキ専用工場での生産に切り換え、従来にない特長を製品に賦与させています。

図1.「ピッカジーン」発光量の他社との比較

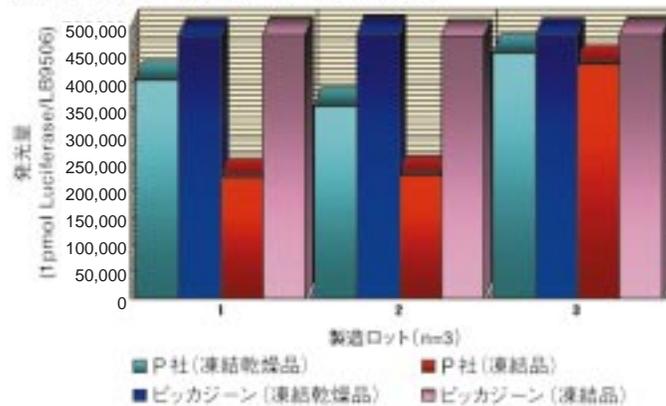
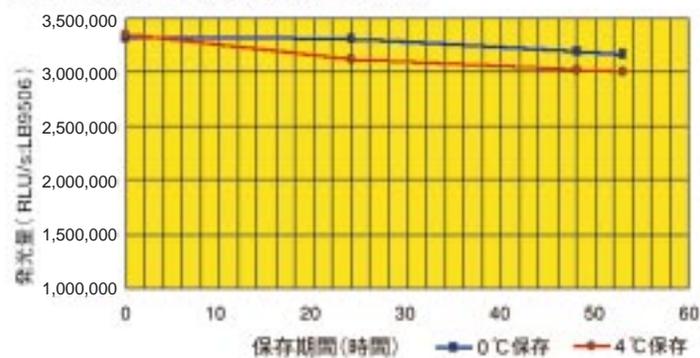


図2.ピッカジーン(凍結品)の保存安定性



## 【特長】

### 発光量のアップ

凍結乾燥品、凍結品、共に発光量を従来に比べアップさせ、世界最高の発光強度を実現しました。またこれに伴い、日本ならではの厳格な品質管理を施し、生産ロット毎の発光量の相違を最小限に抑えていますので、いつでも再現性のあるデータを得ることができます(図1)。

### 試薬の安定性の向上

独自の処方を導入し、いったん使用した試薬も冷蔵(0 または4 )により安定に保存できるようになりました(図2)。また、輸送時に使用されるドライアイスが凍結品(PGL5500、PGL2000)を劣化させるクレームに対応し、それを防ぐ工夫もこれらの製品に適用させてあります。

### 使い勝手および安全性への配慮

凍結乾燥品(PGL100、PGL1500)が入った容器は輸入販売時にはアルミシールで密封されていましたが、これで手を切る危険性やゴミ分別の問題などユーザー側の視点に立ち、全面的に簡単なスクリーキャップに改めました。

### 使用頻度に併せたオーダーメイド生産

カタログに記載されていない容量やサイズのご指定にもお応えします。「ピッカジーン」は試薬ロスのない効率的なルシフェラーゼアッセイのお手伝いを致します。

### ハイスループットタイプの「ピッカジーンLT」登場

従来タイプのピッカジーンに独自に改良を加え、長時間発光し続けるロングタイプを開発。半減期が1時間から7.5時間まで幅広く製品をラインナップし、研究目的に合った製品を選択することができます。細胞溶解剤を含む1液タイプで、ロボットアッセイに対応させています。

加速度的に広がるルシフェラーゼアッセイの用途。それにお応えできる「ピッカジーン(PicaGene)」を目指し、東洋インキ製造(株)はさらなるR&D強化を図っております。

ライフサイエンス分野をさらに明るく照らすホテルの「光」を、是非とも皆様の研究にご活用ください。

コードNo.	メーカーコード	品名	構成内容	容量	希望納入価格(円)
302-04311	PGL100	ピッカジーン発光キット	・発光基質(凍結乾燥品)7mg ・PGL100 1本	100回用	10,000
309-04321	PGL1500	ピッカジーン発光キット	・PGL1500 5本 ・緩衝液 10m/	100回用×5	45,000
306-04331	PGL5500	ピッカジーン発光キット	・発光基質(溶解液)50m/ ・PGL5500 1本	500回用	45,000
303-04341	PGL2000	ピッカジーン発光キット	・PGL2000 5本	500回用×4	165,000
300-04351	PGC50	ピッカジーン 培養細胞溶解剤 Luc (ルシフェラーゼアッセイ専用)		30m/	6,000
307-04361	PGC51	ピッカジーン 培養細胞溶解剤 LC (Luc,CAT, -galactosidaseアッセイに使用)		30m/	6,000

上記以外にも製品をとりそろえておりますので、パンフレットをご請求下さい。

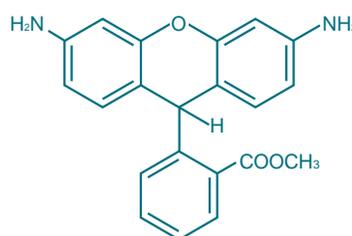
〔パンフレット請求先〕 WAKO BIO WINDOW係  
E-mail : biowin@wako-chem.co.jp  
FAX : 06-6201-5965

I.S.

## ROS検出用 水溶性ジヒドロローダミン123 ジヒドロローダミン123塩酸塩



非蛍光性のジヒドロローダミン123は、細胞に容易に入り、酸化物質や細胞内の酸化還元系により酸化され、蛍光性のローダミン123になりミトコンドリア膜内に蓄積します。スーパーオキシドやペルオキシニトライトを含む活性酸素種の検出に用いられます。本品は、水溶性の塩酸塩になっています。



$C_{21}H_{18}N_2O_3 = 346.38(\text{net})$

### 【規格】

含量(HPLC) : 90.0%以上  
メタノール溶状 : 試験適合

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
047-28231	Dihydrorhodamine 123 Hydrochloride	生化学用	10mg	27,000

### 【参考文献】

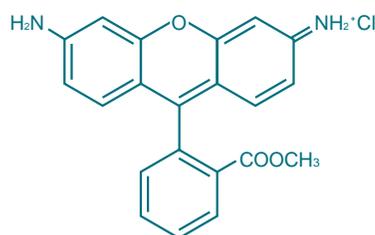
- 1) Kooy, N. W. *et al.*: *Free Radic. Biol. Med.*, 16, 149(1994)      2) Vowells, S. J. *et al.*: *J. Immunol. Meth.*, 178, 89(1995)

K.T.

## ローダミン123



生細胞中のミトコンドリアに取込まれ、ミトコンドリア内の電位変化をモニターする蛍光試薬です。フローサイトメトリー実験に汎用されます。またアポトーシスに伴うミトコンドリアの変化を検出できることから用途は広がっています。



$C_{21}H_{17}ClN_2O_3 = 380.82$

### 【規格】

含量(HPLC) : 95.0%以上  
メタノール溶状 : 試験適合

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
181-01701	Rhodamine 123	生化学用	50mg	17,000

### 【参考文献】

- 1) Bernal, S. D., *et al.*: *Science*, 218, 1117(1982)      2) Millot, J. M., *et al.*: *Cytometry*, 17, 50(1994)

K.N.

# 遺伝子組換え食品のDNA受託検査

株式会社 日本遺伝子研究所  
HIKOH GENE RESEARCH LABORATORIES, INC.

㈱日本遺伝子研究所では、PCR法を用いた遺伝子組換え大豆・とうもろこしの受託検査を行っています。独自の内部精度管理用GMOプライマーを数種類組み合わせ合わせて検出を行っており、また、独自に開発した plant DNA抽出法により高純度のゲノムDNA (260/280比: 2.0OD) を得ることができるため、精度のたいへん良いものとなっています。

## 【GMO検出のフローチャート】

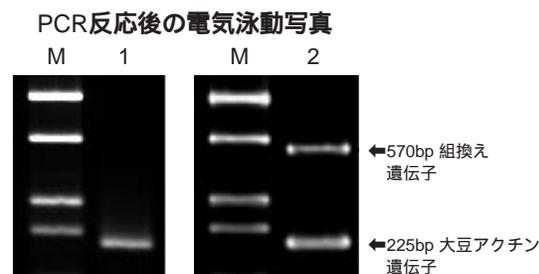
1. DNAの抽出
2. PCRによるDNAの増幅
3. PCR反応生成物の電気泳動による分析
4. DNA分析報告書を発行 (お客様へ発送)

## 【検出可能な材料】

- ▶大豆
- ▶とうもろこし
- (加工品)
- ▶豆乳
- ▶油揚げ
- ▶豆腐
- ▶味噌
- ▶その他ご相談下さい

## 【検出例】

サンプル中に組換え遺伝子 (CP4遺伝子) が存在すれば、570bpの増幅産物 (バンド) が検出されます。またコントロールとして的大豆アクチン遺伝子は225bpのバンドが検出されます。



M: 分子量マーカー (pUC18/Sau3A)

1: 陰性サンプル

2: 陽性サンプル

## 【検査項目】

- ▶PCR法によるGMOの検出
- ▶GMOの定量
- ▶DNAの抽出検査

コードNo.	品名	検体	希望納入価格(円)
638-03081	GMOの検出(受託検査、PCR法)	1回	20,000
635-03091	GMOの検出(受託検査、PCR法)加工品	1回	25,000
638-03101	GMOの定量(受託検査)	1回	50,000

[問い合わせ先] WAKO BIO WINDOW係 E-mail: biowin@wako-chem.co.jp FAX: 06-6201-5965 G.I.T.

## 病理組織包埋用パラフィンに低融点タイプ新登場!



### パソプレップ®546

優れた薄切性・伸展性・浸透性、そのうえ低融点のパラフィンです。免疫染色に優れている上、包埋が難しいと言われるマウス、ラット等の実験小動物の組織包埋に適しています。



コードNo.	品名	融点	規格	容量	希望納入価格(円)
167-20501	Pathoprep® 546	54~56	病理組織包埋用	2kg×3	12,000

## 【関連製品】

162-18961	Pathoprep® 568	56~58	病理組織包埋用	500g×12	13,000
165-19551	Pathoprep® 580	58~60	病理組織包埋用	2kg×3	13,000

[パンフレット請求先] WAKO BIO WINDOW係 E-mail: biowin@wako-chem.co.jp FAX: 06-6201-5965 K.I.T.

# [Gly<sup>14</sup>]-ヒューマニン



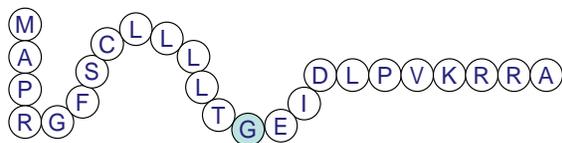
## アルツハイマー病における神経細胞死を強力に抑制するペプチドが見つかる！

アルツハイマー病の重要な研究課題の1つに神経細胞死を進行させる因子の解明があり、報告も多くあります。しかし、慶応大学の西本らは、病気の原因が細胞死の抑制因子に起因し、その作用低下にあると考えました。彼らは death-trap法を用い1V642I-APPを発現させたF11神経株の中から、生存できた細胞をスクリーニングしました。その結果1567塩基からなるcDNAを見いだしました。さらにその遺伝子内のどの部分が細胞死を抑制するかを確定し、アミノ酸24残基からなるHumaninを同定しました [Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 98, 6336-6341 (2001)]。

神経細胞でHumaninを発現させると確かに細胞毒性が抑制されました。また、この神経細胞の培養上清には細胞保護作用が認められました。培養上清のHumanin免疫活性は分子量3-4kDaのバンドにありました。これらの事実から、Humaninは単なる遺伝子情報ではなく、細胞から分泌されて神経細胞の保護作用を示すことが判明しました。

西本らは化学合成したHumaninを用い、神経細胞の保護作用が用量依存的であることを証明しました。同時に、構造活性相関の検討から、14位のSer残基をGly残基に置換した誘導体 [Gly<sup>14</sup>]-Humaninが強い作用を持つことを見いだしました。実際、このペプチドは種々の因子によって引き起こされる細胞毒性を10nMという低用量で強力に抑制しました。

新しい考え方と手法を用いて見いだされた [Gly<sup>14</sup>]-Humaninはアルツハイマー病の研究の発展に大きく寄与するだけでなく、アルツハイマー病治療薬開発に新たな可能性を与えるものと期待されています。



[Gly<sup>14</sup>]-Humanin

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
334-43851	4385-v	[Gly <sup>14</sup> ]-Humanin	0.5 mg/vial	10,000
337-43841	4384-v	Humanin	0.5 mg/vial	25,000

### 【関連製品】

336-43791	4379-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 40) [HCl Form]	0.5 mg/vial	20,000
330-43071	4307-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 40)	0.5 mg/vial	18,000
338-43491	4349-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 42)	0.5 mg/vial	30,000
333-43701	4370-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 43)	0.5 mg/vial	35,000
336-43671	4367-v	[Pyr <sup>3</sup> ]-Amyloid - Protein (Human, 3- 42)	0.5 mg/vial	30,000
334-43091	4309-v	Amyloid - Protein (Human, 25- 35)	0.5 mg/vial	4,000
334-43591	4359-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 16)	0.5 mg/vial	10,000
337-43581	4358-v	-Sheet Breaker Peptide iA 5	5 mg/vial	16,000
330-00111	14307-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 40) Antiserum	0.05 ml/vial	25,000
336-00211	14356-v	Amyloid - Protein (Human, 34- 40) Antiserum	0.05 ml/vial	25,000
333-00221	14357-v	Amyloid - Protein (Human, 37- 42) Antiserum	0.05 ml/vial	25,000
330-00231	14359-v	Amyloid - Protein (Human, 1- 16) Antiserum	0.05 ml/vial	25,000

おしらせ

学会・展示会名	期間	学会場
* 日本生物工学会	9/26 ~ 28	山梨大学
日本神経化学会	9/26 ~ 28	京都国際会議場
* 食品開発展2001	9/26 ~ 28	東京ビッグサイト
* 日本癌学会	9/26 ~ 28	パシフィコ横浜

当社は、\*印の学会・展示会に展示を行っておりますので、是非お越し下さい。

G.I.

## 蛍光法によるアポトーシス検出キット

### 細胞表面のホスファチジルセリン測定によるアポトーシス検出

#### Vybrant Apoptosis Assay Kits

正常細胞では細胞膜の細胞質表面にあるホスファチジルセリンが、アポトーシスの初期段階では細胞膜の外部表面へ移動することが知られています。MPI社の4種類のVybrant Apoptosis Assay キットは、ホスファ

チジルセリンと特異的に結合するannexin V(ホスファチジルセリン結合タンパク質)を用いて正常細胞、アポトーシス細胞、ネクローシス細胞を区別します。

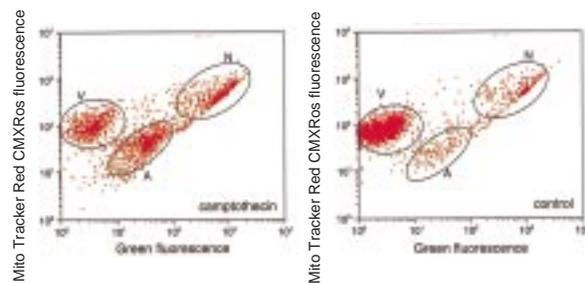
#### Single-Color Assay

503-33691 (V-13240)	Vybrant Apoptosis Assay Kit #1	50回用	68,400円
---------------------	--------------------------------	------	---------

緑色蛍光プローブを組み合わせた一色測定キットです。Alexa Fluor 488 annexin Vがアポトーシス初期の細胞表面のホスファチジルセリンに結合し、膜非透過性のSYTO Green dyeが、形質膜が不完全になったネクローシス細胞を染めます。染色後ネクローシス細胞は正常細胞やアポトーシス細胞よりも強く緑色の蛍光を示します。また、このキットはフローサイトメータのFL1チャンネルのみを使用しますので、残りのチャンネルを他のパラメータの研究に利用することができます。

#### 【キット内容】

- ▶ Alexa Fluor 488 annexin V 250  $\mu$ l
- ▶ SYTO Green dye 100  $\mu$ l
- ▶ 5x Annexin-Binding Buffer 15ml



#### 細胞膜外部表面のホスファチジルセリンとミトコンドリアの変化の同時検出

(左図) Camptothecin処理 (右図) Camptothecin未処理 Vybrant Apoptosis Assay Kit 1とMito Tracker Red CMXRosのマルチパラメータ検出例  
V: 正常細胞 N: ネクローシス細胞 A: アポトーシス細胞

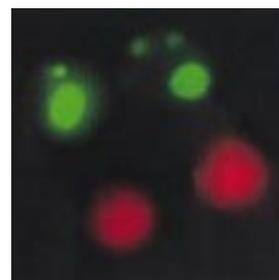
#### Two-Color Assay

506-33701 (V-13241)	Vybrant Apoptosis Assay Kit #2	50回用	59,500円
---------------------	--------------------------------	------	---------

緑色蛍光プローブと赤色蛍光プローブを組み合わせた二色測定キットです。上記のKit #1と同様に、Alexa Fluor 488 annexin Vがアポトーシス細胞表面のホスファチジルセリンと結合し、赤色蛍光のPropidium iodideがネクローシス細胞の核酸と結合します。Propidium iodideは正常細胞や初期のアポトーシス細胞では膜非透過性です。

#### 【キット内容】

- ▶ Alexa Fluor 488 annexin V 250  $\mu$ l
- ▶ Propidium iodide 100  $\mu$ l
- ▶ 5x Annexin-Binding Buffer 15ml



#### 10 $\mu$ M Camptothecin処理されたJurkat細胞でのアポトーシス細胞検出例

初期アポトーシス細胞表面のホスファチジルセリンは、Alexa Fluor488で緑色に、後期アポトーシス細胞とネクローシス細胞は、Propidium iodideで赤色に染色される。

#### Two-Color Assay

503-33711 (V-13242)	Vybrant Apoptosis Assay Kit #3	50回用	46,200円
---------------------	--------------------------------	------	---------

上記Kit #2のAlexa Fluor488 annexin Vの代わりに FITC annexin Vを用いたキットです。

Kit #2, Kit #3はフローサイトメータや蛍光顕微鏡に使用できます。

#### 【キット内容】

- ▶ FITC annexin V 250  $\mu$ l
- ▶ Propidium iodide 100  $\mu$ l
- ▶ 5x Annexin-Binding Buffer 15ml

500-33721 (V-23200)	Vybrant Apoptosis Assay Kit #6	50回用	59,500円
---------------------	--------------------------------	------	---------

アポトーシス細胞表面のホスファチジルセリンをBiotin X annexin Vで染色した後、Alexa Fluor350 streptavidinでannexin Vを明るい青色に蛍光染色します。一方、赤色蛍光のPropidium iodideがネクローシス細胞の核酸と結合します。青色蛍光と赤色蛍光の標識のため、可視スペクトル部分がマルチパラメータ研究に利用できます。

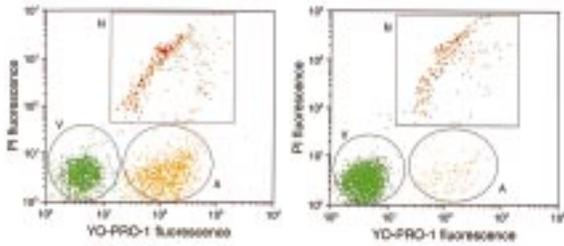
**【キット内容】**

▶ Biotin-X annexin V	250 μl
▶ Alexa Fluor 350 streptavidin	200 μg
▶ Propidium iodide	100 μl
▶ 5 × Annexin-Binding Buffer	28ml

**細胞膜透過性変化によるアポトーシス検出**

507-33731 (V-13243)	Vybrant Apoptosis Assay Kit #4	200回用	38,500円
---------------------	--------------------------------	-------	---------

アポトーシスが進行するにつれ、細胞膜の透過性は段階的に増加します。ネクローシス細胞の膜を透過する赤色蛍光のPropidium iodideとアポトーシス細胞の形質膜を透過し、緑色蛍光に染めるYO-PRO-1を組み合わせた2色測定キットです。この二種類の蛍光色素で染色すると、アポトーシス細胞は緑色蛍光を、死細胞は赤色蛍光を、正常細胞はかすかに蛍光を示します。また、この二種類の色素はアルゴンイオンレーザーの488nmの波長で効率よく励起され、フローサイトメータや蛍光顕微鏡に適しています。



(左図)10 μM Camptothecin処理したJurkat細胞 (右図)未処理Camptothecin処理された細胞ではアポトーシス細胞の比率(A部分)が高くなっている。  
V: 正常細胞 N: ネクローシス細胞 A: アポトーシス細胞

**【キット内容】**

▶ YO-PRO-1 dye	200 μl
▶ Propidium iodide	200 μl

**クロマチン構造の変化によるアポトーシス検出**

504-33741 (V-13244)	Vybrant Apoptosis Assay Kit #5	200回用	29,700円
---------------------	--------------------------------	-------	---------

アポトーシスが進行した細胞ではクロマチン凝集が認められ、核はHoechst33342で明るく蛍光染色されます。このキットは、青色蛍光のHoechst33342と赤色蛍光のPropidium iodideの二種類の蛍光色素を用いています。Hoechst33342でアポトーシス細胞の凝集したクロマチンは青色蛍光染色され、正常細胞のクロマチンはかすかに染色されます。一方、Propidium iodideはネ

クローシス細胞の核酸を赤色蛍光染色します。簡便迅速なフローサイトメトリー用キットです。

**【キット内容】**

▶ Hoechst 33342	200 μl
▶ Propidium iodide	200 μl

**TUNEL法によるアポトーシス検出**

501-33751 (A-23210)	APO-BrdU TUNEL Assay Kit	60回用	68,400円
---------------------	--------------------------	------	---------

アポトーシスにより断片化したDNAの3'-OH末端に5-Bromo-2'-deoxyuridine 5'-triphosphate(BrdUTP)をTerminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)を用いて標識した後、Alexa Fluor488標識した抗BrdUTP抗体を反応させ、アポトーシス細胞をフローサイトメータで検出します。

**【キット内容】**

▶ Positive control cells (1 × 10 <sup>6</sup> cell/ml)	5ml
▶ Negative control cells (1 × 10 <sup>6</sup> cell/ml)	5ml
▶ Terminal deoxynucleotidyl transferase	40.5 μl
▶ 5-Bromo-2'-deoxyuridine 5'-triphosphate	480 μl
▶ Anti-BrdU mouse monoclonal antibody PRB-1, Alexa Fluor 488 conjugate	350 μl
▶ Propidium iodide/ RNase A Staining Buffer	30ml
▶ Reaction Buffer	0.6ml
▶ Wash Buffer	120ml
▶ Rinse Buffer	120ml

## Caspase-3活性測定によるアポトーシス検出



### EnzoChek Caspase-3 Assay Kits

Caspase-3の基質になる Asp-Glu-Val-Asp(DEVD)を用いてCaspase-3やDEVD特異プロテアーゼ活性増加を測定し、アポトーシスを検出するキットです。

508-33761 (E-13183)	EnzoChek Caspase-3 Assay Kit #1	500回用	59,500円
---------------------	---------------------------------	-------	---------

基質としてZ-DEVD-AMCを用いています。この基質は紫外部で弱い蛍光(Ex/Em max: ~330/390nm)がありますが、Caspase-3で強い青色蛍光物質(Ex/Em max: ~342/441nm)に変換されます。

#### 【キット内容】

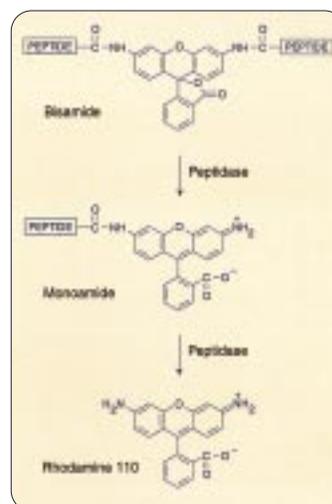
▶ Z-DEVD-AMS substrate	4mg
▶ Dimethylsulfoxide(DMSO)	1.3ml
▶ 20 × Cell Lysis Buffer	1.5ml
▶ 5 × Reaction Buffer	20ml
▶ Dithiothreitol(DTT)	100mg
▶ Ac-DEVD-CHO inhibitor	0.2mg
▶ 7-Amino-4-methylcoumarin(AMC) reference standard	0.5mg

505-33771 (E-13184)	EnzoChek Caspase-3 Assay Kit #2	500回用	68,400円
---------------------	---------------------------------	-------	---------

基質としてZ-DEVD-R110を用いています。この基質自体は非蛍光物質ですが、Caspase-3で非常に強い蛍光物質(Ex/Em max: ~496/520nm)に変換されるのが特徴です。

#### 【キット内容】

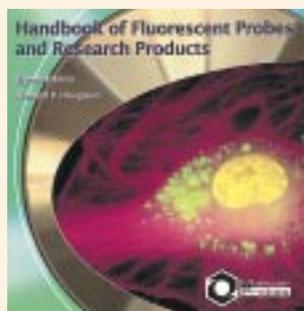
▶ Z-DEVD-R110 substrate	2mg
▶ Dimethylsulfoxide(DMSO)	1.3ml
▶ 20 × Cell Lysis Buffer	1.5ml
▶ 5 × Reaction Buffer	20ml
▶ Dithiothreitol(DTT)	100mg
▶ Ac-DEVD-CHO inhibitor	0.2mg
▶ Rhodamine 110(R110) reference standard	0.5mg



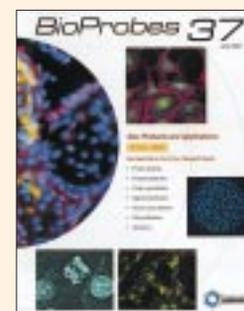
非蛍光のBisamide基質がPeptidaseでまずMonoamide体に、続いて非常に強い蛍光物質体のRhodamine 110 (R-110)に変換される。

U.M.I.

Handbook of Fluorescent Probes and Research Products on CD-ROM 8版 配布中!  
Bioprobesの最新号のNo.37配布中!



CD-ROM 8版



Bioprobes

〔CD-ROM & 冊子請求先〕  
WAKO BIO WINDOW係  
E-mail : biowin@wako-chem.co.jp  
FAX : 06-6201-5965

U.M.I.

## 百日咳毒素

Wako

百日咳毒素は、5種6個のサブユニットからなり、S-1サブユニットがAプロトマー、残りの5量体（S-4が2個、S-2、S-3、S-5）がBオリゴマーと呼ばれています。Aプロトマーは、細胞内に侵入し、Gタンパク質をADPリボシル化します。Bオリゴマーは、標的細胞に結合し、Aプロトマーを細胞内に侵入させます。

起 源： *Bordetella pertussis*  
 分子量： 28,000(S-1)、23,000(S-2)、22,000(S-3)、11,700(S-4)、9,300(S-5)  
 純 度： 5バンド（百日咳毒素） 1バンド（Aプロトマー） 4バンド（Bオリゴマー）（12%ポリアクリルアミドSDS-ureaゲルで電気泳動）  
 活 性： 百日咳毒素についてはCHO Cell Assay<sup>1)</sup>とアデニル酸シクラーゼ活性<sup>2)</sup>、BオリゴマーについてはHA Assay<sup>3)</sup>をロット毎に測定します。

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
547-01701	Pertussis Toxin	生化学用	50 µg	30,000
544-01711	Pertussis Toxin A Protomer	生化学用	10 µg	29,000
541-01721	Pertussis Toxin B Oligomer	生化学用	40 µg	40,000

### 【参考文献】

- 1) Hewlett, M. *et al.*: *Infect. Immun.*, 40, 1198(1983)      3) Sato, Y. *et al.*: *Infect. Immun.*, 41, 313(1983)  
 2) Wolff, J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 3841(1980)      K.T.

## Gタンパク質活性化剤 マストパン

Wako

マストパンはスズメバチの毒成分で、14残基からなる細胞透過性の合成ペプチドです。Gタンパク質共役型レセプターと類似したメカニズムで百日咳毒素感受性のGタンパク質(Gi、Go)を直接活性化させます。本品はトリフルオロ酢酸塩です。

外 観： 白色粉末  
 含 量： 98.0%以上(HPLC)  
 水溶状： 試験適合

H-Ile-Asn-Leu-Lys-Ala-Leu-Ala-Ala-Leu-Ala-Lys-Lys  
 H<sub>2</sub>N-Leu-Ile

コードNo.	品 名	規 格	容 量	希望納入価格(円)
138-13921	Mastoparan	生化学用	1mg	11,800

【参考文献】 Nishida, M. *et al.*: *Nature*, 408, 492(2000)      K.T.

## 高吸水性シート

Wako

### ラボシート™ **50%OFF** 特価キャンペーン

キャンペーン期間：～平成13年9月末まで

**この機会にぜひお試しください!**

#### ラボシートとは

高吸水性ポリマーを吸着させた特殊シートをさらに不織布(表側)、ポリエチレンフィルム(裏側)で挟み、周囲をヒートシール加工しています。

用途はさまざま...解剖、薬理実験、実験器具下敷など  
 サイズ：30cm×40cm

吸水量：1枚あたり、約800ml

但し、対象が血液や体液の場合は吸収能力は多少低下します。



コードNo.	品 名	包装形態	通常価格	キャンペーン価格
121-04701	Labsheet™	10枚	<del>1,900円</del>	950円
127-04703		10枚×10	<del>15,000円</del>	7,500円

G.T.

# セルカウンティング キット-WR( for HTS ) セルカウンティング キット-HS ( for HTS )



Cell Counting Kitは、高感度水溶性ホルマザンを生成するテトラゾリウム塩、WST-8を発色基質として採用しており、ホルマザンを溶解する操作を必要することなく、簡便に生細胞数の高感度測定が可能です。

最近では短時間に多くのサンプルを測定する技術、High-Throughput Screening( HTS )を導入した生化学あるいは分子生物学的研究が盛んに行なわれていますが、その一つとして細胞増殖試験、細胞毒性感受性試験などにおいてもHTSの手法を用いた研究が進められております。

HTS用細胞増殖試験、細胞毒性感受性試験用のCell Counting Kitとして、Cell Counting Kit-WR( for HTS )およびCell Counting Kit-HS( for HTS )を用意いたしました。Cell Counting Kit-WR( for HTS )はWide Range用として、0から25,000cells/wellの細胞数測定に、またCell Counting Kit-HS( for HTS )は高感度用として、0から5,000cells/wellの細胞数測定に適しております。

## 【特 長】

- 384プレート対応のHTS用
- 1液タイプ
- 高水溶性
- Wide Range用とHig Sensitivity用の2タイプをラインアップ

## 【操作方法】

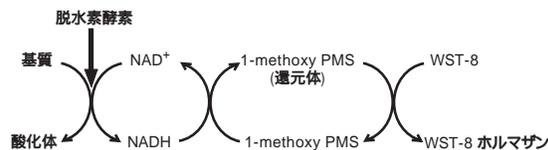
### 細胞増殖試験

- 1)対数増殖期にある細胞懸濁液を384wellマイクロプレートに35  $\mu$ lずつ播種する。
- 2)プレートをCO<sub>2</sub>インキュベーター内で2~3時間インキュベーションする。
- 3)凍結しているキット溶液を融解させる( 37  $^{\circ}$ C以下の温水を使用してもよい)。
- 4)キット溶液35  $\mu$ lを各wellに添加する。
- 5)プレートをCO<sub>2</sub>インキュベーター内で1~4時間インキュベーションする。
- 6)マイクロプレートリーダーで450nmの吸光度を測定する。

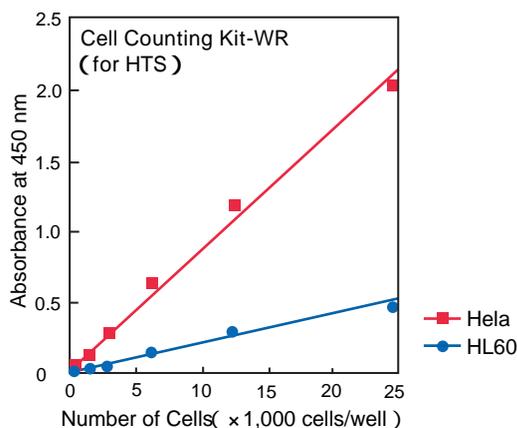
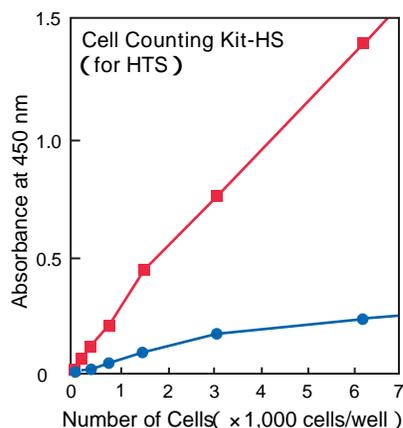
### 細胞毒性試験

- 1)細胞懸濁液( 1,000 ~ 2,000cells/well )を384wellマイクロプレートに35  $\mu$ lずつ播種する。
- 2)プレートをCO<sub>2</sub>インキュベーター内で24~48時間インキュベーションする。
- 3)試料の薬剤溶液5  $\mu$ lを各wellに添加し、CO<sub>2</sub>インキュベーター内で24~48時間インキュベーションする。
- 4)キット溶液35  $\mu$ lを各wellに添加する。
- 5)プレートをCO<sub>2</sub>インキュベーター内で1~4時間インキュベーションする。
- 6)マイクロプレートリーダーで450nmの吸光度を測定する。

## 【Cell Counting Kit の測定原理】



## 【Cell Counting Kit( for HTS )を用いた細胞増殖試験】



Staining: 37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>, 1h( Hela )  
37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>, 4h( HL60 )  
Detection: 450nm

## 【キット内容】

WST-8, 1-methoxy PMS混合水溶液 400m/ x 1本

コードNo.	メーカーコード	品 名	容 量	希望納入価格(円)
340-90261	CK07	Cell Counting Kit-WR( for HTS )	10,000回用	46,000
343-90251	CK08	Cell Counting Kit-HS ( for HTS )	10,000回用	46,000

## CellScreen™ シリーズ

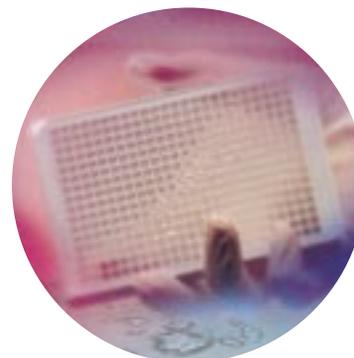
Pierce社からCollagen I、Poly-D-Lysine、Poly-L-Lysineなどの細胞接着因子をコートした、96穴および384穴のマイクロプレートが供給されています。細胞の接着性と増殖能に優れ、レポーターアッセイ、レセプターバインディングアッセイ、細胞毒性試験、細胞

増殖試験、アポトーシスアッセイなどに幅広くお使い頂けます。

またハイスループットスクリーニング (HTS) への使用にも対応していますので、医薬品等の研究開発にもご活用頂けます。

## 【製品概要】

	96well	384well
プレート材質	ポリスチレン	ポリスチレン
well形状	平底	平底
well容量	300μl	100μl
コーティング面積	0.33cm <sup>2</sup> / well	1.6mm <sup>2</sup> / well
ふた	あり(圧縮リング付き)	あり
プレート色	透明 白 白(透明底) 黒(透明底)	透明 白 白(透明底) 黒(透明底)



## CellScreen™ Collagen I Coated Platesシリーズ

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
501-33251	15610	Collagen I Coated Clear 96-well Plates	5枚	12,200
508-33261	15611	Collagen I Coated White 96-well Plates	5枚	13,900
505-33271	15612	Collagen I Coated White with Clear Bottom 96-well Plates	5枚	22,000
502-33281	15613	Collagen I Coated Black with Clear Bottom 96-well Plates	5枚	22,000
509-33291	15615	Collagen I Coated Clear 384-well Plates	5枚	15,500
502-33301	15616	Collagen I Coated White 384-well Plates	5枚	17,200
509-33311	15617	Collagen I Coated White with Clear Bottom 384-well Plates	5枚	27,500
506-33321	15618	Collagen I Coated Black with Clear Bottom 384-well Plates	5枚	27,500

## CellScreen™ Poly-D-Lysine Coated Platesシリーズ

509-33171	15600	Poly-D-Lysine Coated Clear 96-well Plates	5枚	12,200
506-33181	15601	Poly-D-Lysine Coated White 96-well Plates	5枚	13,900
503-33191	15602	Poly-D-Lysine Coated White with Clear Bottom 96-well Plates	5枚	22,000
506-33201	15603	Poly-D-Lysine Coated Black with Clear Bottom 96-well Plates	5枚	22,000
503-33211	15605	Poly-D-Lysine Coated Clear 384-well Plates	5枚	15,300
500-33221	15606	Poly-D-Lysine Coated White 384-well Plates	5枚	17,200
507-33231	15607	Poly-D-Lysine Coated White with Clear Bottom 384-well Plates	5枚	27,500
504-33241	15608	Poly-D-Lysine Coated Black with Clear Bottom 384-well Plates	5枚	27,500

## CellScreen™ Poly-L-Lysine Coated Plates

502-31341	15620	Poly-L-Lysine Coated Clear 96-well Plates	5枚	12,200
-----------	-------	---	----	--------

プレートはすべて放射線滅菌処理済みです。

G.J.

## — 訂正のお詫びと変更のご案内 —

WAKO BIO WINDOW No.30の17頁に紹介しました日本ハム(株)家畜臓器の輸送条件に誤りがありました。正しくは、ドライアイスでの冷凍輸送を行なうことはできません。WAKO BIO WINDOW No.22の12頁に紹介致しました(株)ヤガイの「ミニスラブ電気泳動槽」の名前を「ミニ電気泳動槽」に変更させていただきます。

WAKO BIO WINDOW No.31の4頁に紹介しました「RNAサイズスタンダードマーカー」の電気泳動写真の泳動パターンに誤りがありました。誤り「RNAサイズスタンダードマーカー」正「RNAサイズスタンダードマーカー」誤り「本品」正「RNAサイズスタンダードマーカー(541-00741)」

genzyme  
TECHNE

骨形成の研究に...

## ヒト AN'ALYZA BMP-4 イムノアッセイキット

本キットは2種類モノクローナル抗体を用い、組織や培養上清中のヒトBMP-4 (Bone morphogenic protein-4) の濃度をELISA法により測定するキットです。キットには測定に必要な試薬がすべて入っており、約4.5時間でBMP-4濃度を測定することができます。

## 【特長】

2種類モノクローナル抗体を使用。  
短時間（4.5時間）で測定が可能。  
培養上清、組織から測定可能。

## 【操作方法】

## 抗BMP-4抗体固相化プレート

- ◀ 測定用緩衝液 100  $\mu$ l
- ◀ サンプル or 標準品 50  $\mu$ l

室温、2時間

洗浄

- ◀ 標識抗体 200  $\mu$ l

室温、2時間（遮光）

洗浄

- ◀ 発色基質 200  $\mu$ l

室温、30分（遮光）

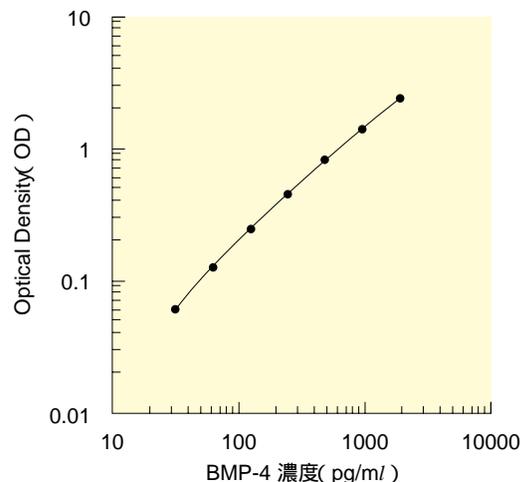
- ◀ 反応停止液 50  $\mu$ l

測定 450nm

## 【キット構成】

- ▶ 抗BMP-4抗体固相化プレート 1枚
- ▶ HRP標識抗BMP-4抗体 21m/
- ▶ BMP-4標準品 20ng
- ▶ 測定用緩衝液 11m/
- ▶ 標準品希釈液 21m/
- ▶ 25倍濃縮洗浄液 21m/
- ▶ 発色液A 12.5m/
- ▶ 発色液B 12.5m/
- ▶ 反応停止液 6m/
- ▶ プレートカバー 4枚

## 【検量線】



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
507-34571	8086	Human AN'ALYZA BMP-4 Immunoassay Kit	96回用	76,000

本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「家庭用品」などとして使用できません。  
希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

## 和光純薬工業株式会社

本社 ☎540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 ☎(06) 6203-3741(代表)  
支店 ☎103-0023 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号 ☎(03) 3270-8571(代表)  
●九州営業所 ☎(092) 622-1005(代) ●中国営業所 ☎(082) 285-6381(代)  
●東海営業所 ☎(052) 772-0788(代) ●横浜営業所 ☎(045) 476-2061(代)  
●北関東営業所 ☎(048) 641-1271(代) ●筑波営業所 ☎(0298) 58-2278(代)  
●東北営業所 ☎(022) 222-3072(代) ●北海道営業所 ☎(011) 271-0285(代)  
フリーダイヤル：0120-052-099 フリーファックス：0120-052-806

機器の連絡先 06-6203-2759 / 03-3270-8124

01.820.6学01F