

# Wako Bio

# Window

2003. JUL.

7  
No.50

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

## C O N T E N T S

### 遺伝子

amaxa社 Nucleofector™ Kitシリーズ	
Neural Stem Cell Nucleofector™ Kit	p.2
Human Keratinocyte-Neonatal Nucleofector™ Kit	p.3
Cell Line Optimization Nucleofector™ Kit	p.4
N-G社 Ligation-Convenience Kit	p.5
低分子量DNAステップラダー	p.6
RNAサイズスタンダードマーカー (0.28-6.58kb)	p.7
Novagen社 RiboJuice™ siRNA Transfection Reagent	p.8
BioChain社 機能的ゲノミクス/プロテオミクス製品	p.10
アルカリフォスファターゼ溶液エビ由来	p.14
分子生物学用 NTP溶液	p.14
同仁化学 抗ニトログアニン抗体 発売記念小包装 限定販売	p.19

### 細胞

ホクドー社 DNA定量キット	p.16
ORPEGEN社 MIGRATEST®	p.23

### 蛍光

KMG-20-AM	p.12
同仁化学 Calcium Kit - Fluo 3	p.18

### 骨研究

「骨代謝」関連試薬	p.20
象牙質切片,象牙由来	p.21

### 脂質研究

イノシトールリン脂質代謝関連物質	p.22
------------------	------

### 電気泳動

SuperSep™ (電気泳動用プレキャストゲル)	p.24
---------------------------	------

### 生理活性物質

TOCRIS社 生理活性物質	p.12
----------------	------

### お知らせ

Novagen社 日本語版分子生物学カタログ 2003-2004発行	p.9
BioChain社 カタログ紹介	p.12
Upstate社 (UBI) カタログとリーフレット紹介	p.15

# 遺伝子導入装置「Nucleofector™」専用キットシリーズ Neural Stem Cell Nucleofector™ Kit

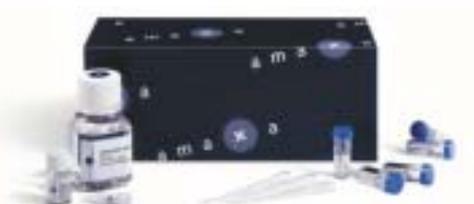


## マウス神経幹細胞、ラット神経幹細胞用

遺伝子導入システムNucleofector™は、導入装置と細胞毎に特化した専用試薬により高導入効率を得られ大好評をいただいています。今回、マウス用とラット用の2種類の神経幹細胞用キットが発売されました。本キットでの導入効率はマウス、ラットともに40%以上の高い導入効率が可能で、ウイルス法を用いない簡便な導入法として神経幹細胞研究をバックアップします。



Nucleofector™ Device



Nucleofector™ Kit

### 【特長】

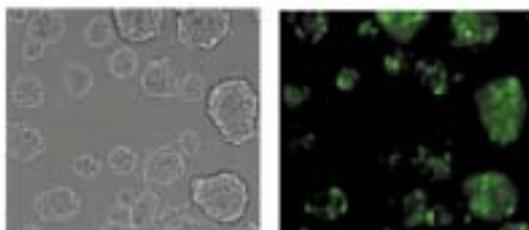
- 高い導入効率 (40 ~ 60%)
- 低い死細胞率
- 操作が簡単で再現性が高い

### 【キット構成】

- ▶ Nucleofector™ Solution ..... 2.25ml
- ▶ Supplement ..... 0.5ml
- ▶ キュベット ..... 25個
- ▶ ピペット ..... 25本
- ▶ プロトコール ..... 1冊

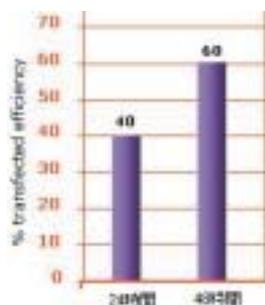
### 【導入データ】

マウス神経幹細胞用キットでの導入例



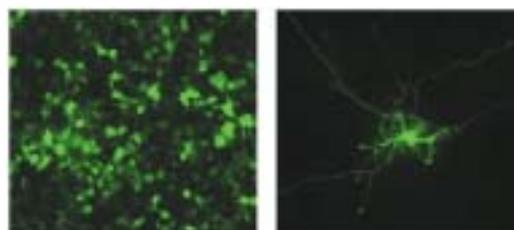
マウス胚から神経幹細胞を単離しプログラムA-33を使用しpEGFPを導入した。

- 図左) 導入後48時間経過時の顕微鏡像
- 図右) 導入後48時間経過時の蛍光顕微鏡像



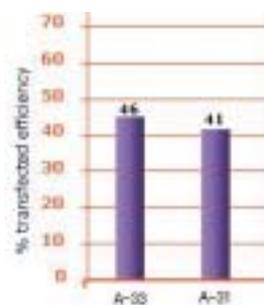
5 μgのpEGFPを導入後24時間経過時、48時間経過時の導入効率  
細胞生存率は85-90%である。

ラット神経幹細胞用キットでの導入例



ラット胚から神経幹細胞を単離しプログラムA-31を使用しEGFPを導入した。

- 図左) 導入後2日経過時の蛍光顕微鏡像
- 図右) 導入後7日経過時の蛍光顕微鏡像



5 μgのEGFPをA-33(高導入効率もしくは長期間発現させるためのプログラム)と、A-31(分化能に最適なプログラム)により導入を行い48時間経過時導入効率を測定

今回ご紹介したキットは神経幹細胞用キットになっています。海馬上神経細胞、皮質細胞、後根節神経細胞への遺伝子の導入を御検討の場合はそれぞれ専用のNeuron Nucleofector™ Kitをご使用下さい。

# Human Keratinocyte-Neonatal Nucleofector™ Kit

Keratinocyteは細胞工学の標的細胞として大きな注目を浴びています。導入効率は53%と高い導入効率を実現します。

またKeratinocyteのモデル細胞株として使われるHaCaT細胞についても専用プロトコルを用意し、株化細胞用キット(Nucleofector™ Kit V)にて43%と高い導入効率が得られます。

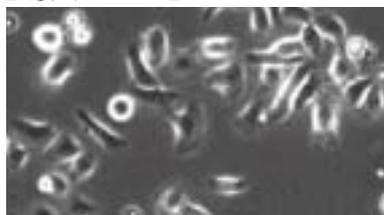
## 【キット構成 (25回用)】

- ▶ Human Keratinocyte-Neonatal Solution .....2.25ml/
- ▶ Supplement .....0.5ml/
- ▶ キュベット .....25個
- ▶ ピペット .....25本
- ▶ プロトコル .....1冊

## 【特長】

- 高い導入効率
- 再現性が高い
- 操作が簡単

## 【導入データ】



導入後24時間経過時の顕微鏡像



導入後24時間経過時の蛍光顕微鏡像

Human Keratinocyte-Neoへの遺伝子導入例

プログラム T-07

導入遺伝子 : pEGFP 2.5 μg

細胞生存率 : 50-60%



包皮から単離したHuman Keratinocyte-NeonatalへpEGFPを導入し24時間後、48時間後の導入効率  
使用プログラム T-18

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
<b>NEW</b> 572-72341	VPG-1004	Mouse Neural Stem Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
<b>NEW</b> 579-72351	VPG-1005	Rat Neural Stem Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
506-99001	VPD-1002	Normal Human Epidermal Keratinocyte-Neonatal Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
570-35521	VPG-1001	Mouse Neuron Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
577-35531	VPG-1002	Chicken Neuron Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
570-38681	VPG-1003	Rat Neuron Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
507-98931	VPA-1001	Human B Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
504-98941	VPA-1002	Human T Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
501-98951	VPA-1003	Human CD34 Hematopoietic Progenitor Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
579-32671	VPA-1004	Human Dendritic Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
508-98961	VPB-1001	Human Coronary Artery Endthelial Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
505-98971	VPB-1002	Human Umbilical Vein Endthelial Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
573-35491	VPB-1003	Human Microvascular Endothelial Cell-Lung Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
502-98981	VPC-1001	Human Aortic Smooth Muscle Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
509-98991	VPD-1001	Normal Human Dermal Fibroblast Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
503-99011	VPD-1003	Normal Human Epidermal Melanocyte-Neonatal Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
576-35481	VPE-1001	Human Mesenchymal Stem Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
573-35511	VPF-1001	Human Chondrocyte Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
574-70721	VPH-1001	Mouse ES Cell Nucleofector™ Kit	25回用	60,000
500-99021	VCA-1001	Nucleofector™ Kit R for Cell Line ( e. g. for HeLa, NIH 3T3 )	25回用	60,000
507-99031	VCA-1002	Nucleofector™ Kit T for Cell Line ( e. g. for CHO, UT7/Epo )	25回用	60,000
504-99041	VCA-1003	Nucleofector™ Kit V for Cell Line ( e. g. for 293, COS-7, K562, PC12, Jurkat, HepG2, HL60, HaCaT )	25回用	60,000

## 【導入装置】

500-98921	AAD-1001	Nucleofector™ Device	1台	2,500,000
-----------	----------	----------------------	----	-----------

# Cell Line Optimization Nucleofector™ Kit

Nucleofector™は最適化された条件で遺伝子導入を行なうシステムですが、本キットは導入条件が最適化されていない細胞に対して最適導入条件を検討するキットです。検討方法はプロトコールに指示された下記プログラムを用いて遺伝子導入を行なうことにより最適試薬と最適プログラムを決定します。キット内容はCell Line Nucleofector™ Kit R, T, Vの三種類の試薬から成り、50回用になっています。

## ステップ1

Solution	R	T	V
program 1	A-23	A-23	A-23
program 2	A-27	A-27	A-27
program 3	T-20	T-20	T-20
program 4	T-27	T-27	T-27
program 5	T-16	T-16	T-16
program 6	T-01	T-01	T-01
program 7	G-16	G-16	G-16
program 8	O-17	O-17	O-17

各試薬について上記の8つのプログラム(8×3=24通り)で遺伝子導入を行ないます。

## ステップ2



死細胞が少なく、高導入効率である試薬、プログラムを見つけます。

## ステップ3



見つけたプログラムを基にさらに有効なプログラム条件の検討も可能です。弊社にお問い合わせ下さい。

## 【使用例】

### MLO-Y4-A2細胞の導入条件の最適化 (北海道医療大学歯学部 口腔生化学講座より提供データ)

MLO-Y4-A2細胞へEGFPとLuciferase遺伝子プラスミドをco-transfectionし導入効率の検討を行った。

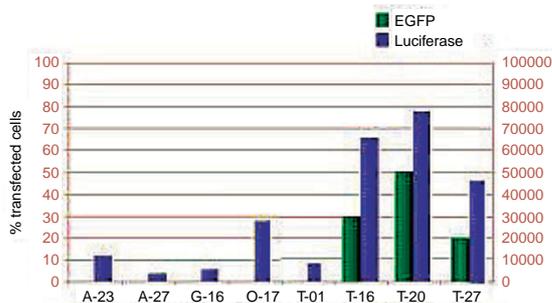
従来法での導入効率は非リボソーム系脂質の導入試薬により30%程度であった。

### ステップ2結果

#### Vキット

導入遺伝子	EGFP	Luciferase	生存率 (%)
プログラム	導入効率 (%)	導入効率 (%)	
A-23	0	10855	50
A-27	0	2704	50
G-16	0	4724	50
O-17	0	28024	50
T-01	0	8655	50
T-16	0	65310	50
T-20	50	78570	50
T-27	20	48358	50

(EGFP発現は蛍光顕微鏡により目視にて測定)



各試薬とプログラムにて導入を行った所、Vキットでの導入効率が良くプログラムT-20にて高い導入効率を示した。

遺伝子量：2 µg (EGFP) 2 µg (Luciferase)

Luciferase分析時間：30秒

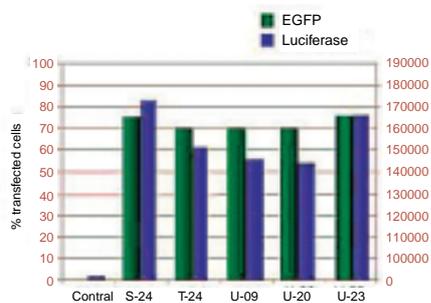
細胞生存率：50%

### ステップ3結果

#### Vキット

導入遺伝子	EGFP	Luciferase	生存率 (%)
プログラム	導入効率 (%)	導入効率 (%)	
S-24	75	173793	80
T-24	70	151537	80
U-09	70	146255	80
U-20	70	145398	80
U-23	75	166057	80
control (none)	0	138	100

(EGFP発現は蛍光顕微鏡により目視にて測定)



ステップ1のデータをamasa社に送ると導入データを基にS-24, T-24, U-09, U-20, U-23のプログラムの検討が提案された。

Vキットにて提案されたプログラムにて導入を行うとステップ2では得られなかった高導入効率(75%)が細胞を死滅させることなく得られた。

細胞生存率：80%

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
573-26341	VCO-1001	Cell Line Optimization Nucleofector™ Kit	50回用	140,000

I. K.

短時間で高効率なDNAライゲーションが可能です！

# Ligation-Convenience Kit



Ligation-Convenience Kitは、DNAライゲーションを迅速・簡便に行うことができるキットです。

2×Ligation Mixには、T4 DNA Ligase、ATP、DTT、反応バッファーなどDNAのライゲーションに必要な試薬が全て含まれており、DNA溶液と等量の2×Ligation Mixを加えるだけでDNAライゲーションを行うことができます。

このキットを使用することで、DNAの末端形状に関わらず5～30分間でライゲーション反応を行うことができ、反応終了液は、そのまま形質転換や*in vitro*パッケージングに使用することができます。

## 【特長】

- 短い反応時間(5～30分、16 )
- 高いライゲーション効率
- DNA末端形状によるバッファー至適化が不要
- 簡単操作
- 低コスト

## 【内容】

2×Ligation Mix 250 μl×4本  
(20 μlの反応系で約100反応分)

## 【使用例】

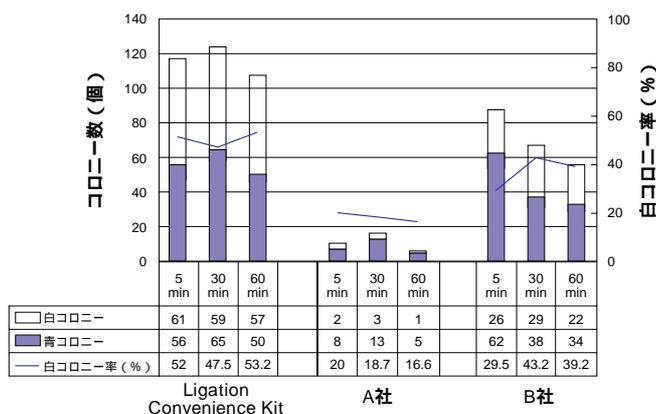
プラスミドベクターへのクローニング

ベクター-DNA	} Up to 10 μl
DNA断片	
ddH <sub>2</sub> O	
2×Ligation Mix	10 μl
Total	20 μl

【保存方法】 -20 (50回の凍結融解による反応性の低下は認められておりません。)

## 【実験例】平滑末端ライゲーションでの性能比較

- pBluescript SK(+)をEcoRで切断し、脱リン酸化、除タンパク後にTEバッファーに溶解した。
- DNA由来のDNA断片500bpをEcoRで切断した。
- pBluescript SK(+)50ngとインサートDNA断片20ng(インサート/ベクターモル比 2.4)を含むDNA溶液10 μlを調製した。
- DNA溶液10 μlに2×Ligation Mixを10 μl添加し、混合した。
- 16 で5～60分間反応させた。
- 反応後、JM109コンピテントセル50 μlを反応液5 μlで形質転換し、生じたコロニー数を計測した。また、比較したキットについてはそれぞれのキットのプロトコルに従って実験を行った。



## 【結果】

白コロニー率、コロニー数ともに、Ligation-Convenience Kitが最も高値を示し、ライゲーション効率、形質転換効率がともに高いことが示唆された。

## 【ポイント】

- 16時間など、長時間のインキュベーションは避けて下さい。形質転換効率が低下します。
- 効率的なライゲーションを行うためには適切なインサート/ベクターモル比で実験を行うことが重要です。ライゲーションの種類に合わせて、下記の条件を参考にして下さい。

粘着末端ライゲーション	インサート/ベクターモル比	= 1以上
平滑末端ライゲーション	インサート/ベクターモル比	= 5以上
リンカーライゲーション	インサート/ベクターモル比	= 50～100以上

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
319-05961	Ligation-Convenience Kit	100回分	20,000

# 低分子量DNAステップラダー



## 10bp DNAステップラダー (10-100bp)

本品は、10bpから100bpまで10bp間隔に10本のDNA断片で構成されます。4%アガロースゲルに添加し、エチジウムブロマイドで染色することにより、クリアーなバンドを確認することができます。

形状：10mmol/l Tris-HCl (pH7.4)  
1mmol/l EDTA  
添加量：1  $\mu$ l/レーン  
使用回数：50レーン分



本品には、6×Blue/Orange Loading Dye\*が添付されています。

\* 15% Ficoll® 400, 0.03% Bromophenol Blue, 0.03% Xylene Cyanol FF, 0.4% Orange G, 10mmol/l Tris-HCl (pH7.5) 50mmol/l EDTA (pH8.0)

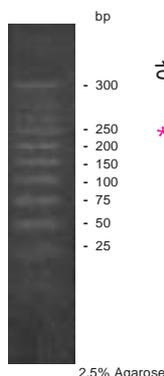
【保存温度】 - 20

Wako

## 25bp DNAステップラダー (25-300bp)

本品は、25bpから300bpまで25bp間隔に12本のDNA断片で構成されます。2.5%アガロースゲルに添加し、エチジウムブロマイドで染色することにより、クリアーなバンドを確認することができます。

形状：10mmol/l Tris-HCl (pH8.0)  
1mmol/l EDTA  
添加量：5  $\mu$ l/レーン  
使用回数：50レーン分



本品には、6×Blue/Orange Loading Dye\*が添付されています。

\* 15% Ficoll® 400, 0.03% Bromophenol Blue, 0.03% Xylene Cyanol FF, 0.4% Orange G, 10mmol/l Tris-HCl (pH7.5) 50mmol/l EDTA (pH8.0)

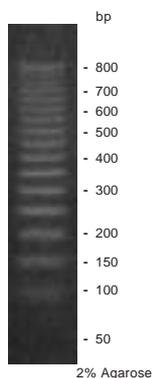
【保存温度】 - 20

Wako

## 50bp DNAステップラダー (50-800bp)

本品は、50bpから800bpまで50bp間隔に16本のDNA断片で構成されます。2%アガロースゲルに添加し、エチジウムブロマイドで染色することにより、クリアーなバンドを確認することができます。

形状：10mmol/l Tris-HCl (pH8.0)  
1mmol/l EDTA  
添加量：5  $\mu$ l/レーン  
使用回数：50レーン分



本品には、6×Blue/Orange Loading Dye\*が添付されています。

\* 15% Ficoll® 400, 0.03% Bromophenol Blue, 0.03% Xylene Cyanol FF, 0.4% Orange G, 10mmol/l Tris-HCl (pH7.5) 50mmol/l EDTA (pH8.0)

【保存温度】 - 20

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
040-28721	10bp DNA Step Ladder (10-100bp)	遺伝子研究用	32.5 µg (50 µl)	17,000
547-02301	25bp DNA Step Ladder (25-300bp)	遺伝子研究用	90 µg (250 µl)	19,000
544-02311	50bp DNA Step Ladder (50-800bp)	遺伝子研究用	85 µg (250 µl)	19,200

#### 【関連商品】

546-01651	100bp DNA Step Ladder (100-1.5kbp)	遺伝子研究用	30 µg	14,000
544-02051	DNA Step Ladder Mix (80-10kbp)	遺伝子研究用	0.5ml × 2	28,000

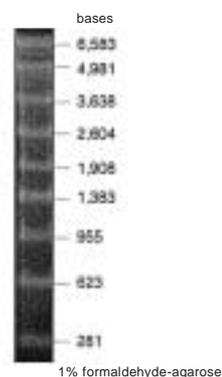
K. O.

## RNAサイズスタンダードマーカー (0.28-6.58kb)



本品は、281、623、955、1,383、1,908、2,604、3,638、4,981、6,583bの9種類の *in vitro* 転写RNA産物です。グルオキサルまたはホルムアレデヒドアガロースゲル電気泳動でRNAサイズスタンダードとして使用することができます。エチジウムブロマイドで染色することによりバンドを確認できます。

形状：10mmol/l Tris-HCl (pH8.0)  
1mmol/l EDTA  
添加量：3 µl/レーン



【保存温度】 - 80

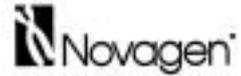
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
188-01831	RNA Size Standard Marker (0.28-6.58kb)	遺伝子研究用	50 µl	20,000

#### 【関連商品】

541-00741	RNA Size Standard Marker RNAサイズ：100、200、300、400、500b	遺伝子研究用	25 µg	14,500
542-00651	RNA Size Standard Marker RNAサイズ：0.5k、1k、1.5k、2k、2.5k、3k、4k、5k、6k、9kb	遺伝子研究用	50 µg	24,000
545-01621	RNA Size Standard Marker (100b-1kb) RNAサイズ：100、200、300、400、500、750、1000b	遺伝子研究用	50 µg	16,000
548-01731	Ribosomal RNA Marker (16S + 23S) RNAサイズ：1,776、3,566b	遺伝子研究用	2.5mg	14,000
545-01741	Ribosomal RNA Marker (18S + 28S) RNAサイズ：2,000、5,300b	遺伝子研究用	250 µg	35,000

K. O.

siRNA専用のトランスフェクション試薬



# RiboJuice™ siRNA Transfection Reagent

本品は、siRNA用に最適化されたポリアミンと脂質をベースにしたトランスフェクション試薬です。広範囲な哺乳類細胞に対し、siRNAを効率よく導入することができます。

## 【導入実績細胞】

COS-7, NIH3T3, HeLa, HEK293, CHO, HepG2, Neuro-2A, BHK, MCF-7, A549, L6

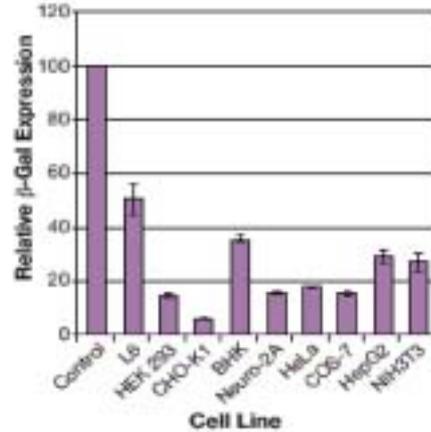
## 【特長】

- 高効率でsiRNA導入が可能
- 毒性が低い
- GeneJuice™ Transfection Reagentとの併用でsiRNAとプラスミドDNAとのco-transfectionが可能
- 導入の際、血清の除去は不要
- 種々の細胞にて50～90%抑制
- 5nMで抑制効果が確認できる
- 操作が簡単

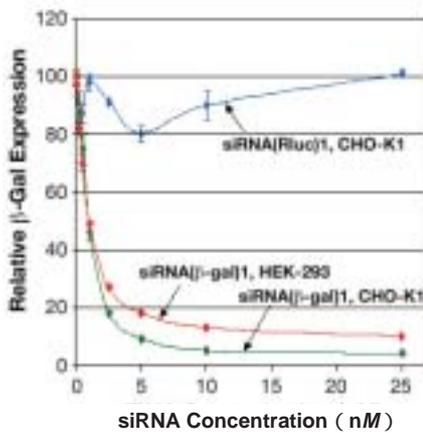
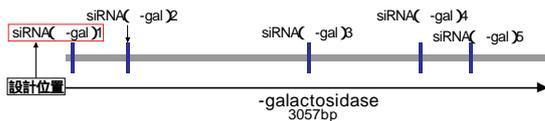
## 【保存条件】 4

## 【組成】 2.5mg/ml溶液 (エタノール)

## 【種々の細胞による $\beta$ -galactosidaseの抑制】

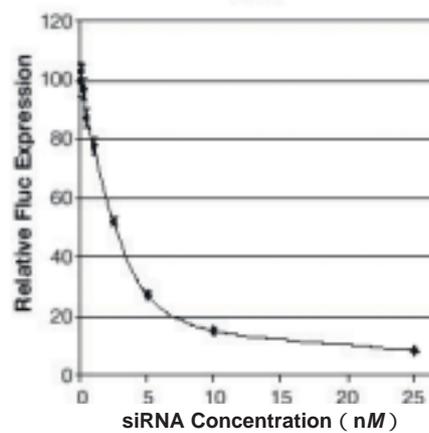
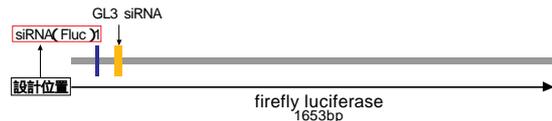


$5 \times 10^4$ 細胞に GeneJuice™ Transfection Reagentと RiboJuice™ siRNA Transfection Reagentを用いて、siRNAとplasmid DNAをco-transfectionした。  
 siRNA:  $\beta$ -gal用siRNA (10nM)  
 plasmid: pTriEx-2( $\beta$ -gal)0.25  $\mu$ g, pTriEx-2(F-luc)0.025  $\mu$ g  
 導入効率は、F-lucで補正。n=3でのデータ。



CHO-K1とHEK-293細胞 ( $5 \times 10^4$ )に対し、培地に対する終濃度0.1、0.25、0.5、1、2.5、5、10、25nMのsiRNAをそれぞれ加えて抑制効果を見た。

siRNA:  $\beta$ -galおよびR-luc siRNA  
 plasmid: pTriEx-2( $\beta$ -gal)0.25  $\mu$ g, pTriEx-2(F-luc)0.025  $\mu$ g, 導入効率は、F-lucで補正。n=3でのデータ



翻訳開始部に設計したsiRNA(F-luc)1において、CHO-K1細胞 ( $5 \times 10^4$ )に対し、各終濃度0.1、0.25、0.5、1、2.5、5、10、25nMのsiRNAをそれぞれ加えて抑制効果を見た。

siRNA: F-luc siRNA  
 plasmid: pTriEx-2(F-luc), pTriEx-2( $\beta$ -gal) 導入効率は、 $\beta$ -galで補正。n=3でのデータ  
 GL3 siRNAは、Nature 411, 494-498(2001)の配列を示している。

## 【siRNA導入プロトコル(24ウェル)】

tube  
 + 47  $\mu$ l 血清フリー培地  
 + 1 ~ 5  $\mu$ l Ribojuice™ siRNA Transfection Reagent  
 ボルテックス  
 室温、5分間  
 + 0.1 ~ 25nM( final conc. ) siRNA \*1  
 混和  
 室温、5 ~ 15分間

24ウェル( 2 - 8  $\times 10^4$  ~ 0.5 - 2.5  $\times 10^5$  cells ) \*2

前後左右に混和 \*3

37、24 ~ 72時間

( 2 ~ 8時間後に培地交換 )

分析

- \*1 Total volumeの10%を超えないようにする
- \*2 附着細胞の場合 : 50 ~ 80% confluency  
 浮遊細胞の場合 : 4  $\times 10^5$  cells/250  $\mu$ l培地
- \*3 siRNAが中央に集まる為円を描くように混和しないで下さい。

## 【Co-transfectionのプロトコル(24ウェル)】

tube + 49 $\mu$ l 血清フリー培地 + 1 $\mu$ l GeneJuice™ ボルテックス 室温、5分間 + 0.25 $\mu$ g plasmid DNA 室温、5 ~ 15分間	tube + 47 $\mu$ l 血清フリー培地 + 3 $\mu$ l RiboJuice™ ボルテックス 室温、5分間 + 0.1 ~ 25nM( final conc. ) siRNA *1 混和 室温、5 ~ 15分間
---	--

50  $\mu$ l

50  $\mu$ l

24ウェル( 2 - 8  $\times 10^4$  ~ 0.5 - 2.5  $\times 10^5$  cells ) \*2

前後左右に混和 \*3

37、24 ~ 72時間

( 2 ~ 8時間後に培地交換 )

分析

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
575-71231	71115-3	RiboJuice™ siRNA Transfection Reagent	0.3ml( 100回用 )	34,500
571-71233	71115-4		1.0ml( 333回用 )	74,800

## 【関連製品】

506-31464	70967-5	GeneJuice™ Transfection Reagent	0.3ml	18,000
502-31461	70967-3		1ml	41,000
508-31463	70967-4		1ml $\times$ 10	280,000

U. T.

# 日本語版 Novagen分子生物学カタログ 2003-2004発行

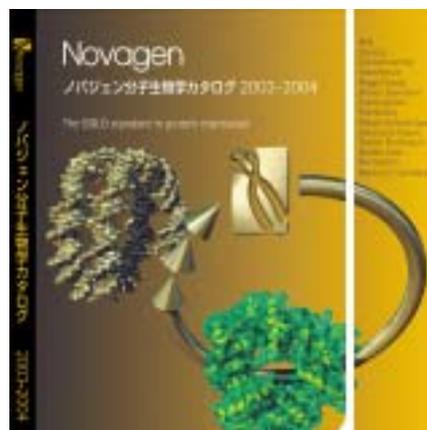
全ての製品を日本語でご確認頂けます。既存のプロテオミクス関連製品に加え、2つのタンパク質を同時に大腸菌で発現できるベクター、ハイスループット用精製キットなど新製品を80品目近く掲載しています。

## 【掲載内容】

PCR	ライブラリー、標本
クローニング	タンパク質の精製
形質転換・形質導入	核酸の精製
ファージディスプレイ	分子量マーカー
タンパク質発現	
転写・翻訳	
タンパクと遺伝子解析	

## 【カタログ請求先】

Wako BioWindow 係  
 E-mail : biowin@wako-chem.co.jp  
 FAX : 06-6201-5964



U. T.



# 機能的ゲノミクス/プロテオミクス製品

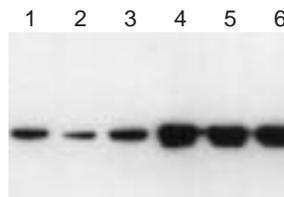
## 【特長】

高品質のTotal ProteinをPVDF膜にプロット  
 高感度  
 Proteinの絶対量で標準化

すべてのプロットに内部コントロールが含まれているため、プロット間での発現比較が可能  
 RIおよびNon-RI両方の標識プローブに使用可能

## 【BioChain社のWestern Blotを用いたイムノアッセイ】

ヒト正常組織由来プロットで  $\alpha$ -actin抗体を用いて化学発光法により検出した。各レーンには、50  $\mu$ gのTotal RNAがプロットされている。各組織において、 $\alpha$ -actinタンパク質の発現強度が異なっている。



Lane 1: Brain      2: Liver      3: Pancreas  
 Lane 4: Placenta    5: Lung      6: Kidney

## Human Adult Normal Tissue Total Protein Western Blot (ヒト成人正常組織由来)

各レーンに50  $\mu$ gのTotal Proteinをプロット。  
 内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.										
メーカーコード	W1234401	W1234402	W1234403	W1234404	W1234405	W1234406	W1234407	W1234408	W1234409	W1234410
希望納入価格	¥112,000	¥112,000	¥112,000	¥250,000	¥112,000	¥112,000	¥188,000	¥138,000	¥138,000	¥112,000
由来組織										
Lane 1	Heart	Stomach	Brain	Heart	Uterus	Heart	Brain	Brain	Stomach	Frontal Lobe
Lane 2	Brain	Jejunum	Uterus	Brain	Cervix	Liver	Lung	Kidney	Jejunum	Temporal Lobe
Lane 3	Liver	Ileum	Lung	Kidney	Ovary	Pancreas	Kidney	Lung	Ileum	Parietal Lobe
Lane 4	Pancreas	Colon	Kidney	Liver	Testis	Spleen	Spleen	Colon	Colon	Occipital Lobe
Lane 5	Skeletal Muscle	Rectum	Spleen	Lung	Prostate	Prostate	Stomach	Intestine	Rectum	Cerebellum
Lane 6	Placenta	Placenta	Placenta	Pancreas	Placenta	Placenta	Jejunum	Uterus	Diaphragm	Placenta
Lane 7				Spleen			Ileum	Cervix	Lung	
Lane 8				Skeletal Muscle			Colon	Placenta	Placenta	
Lane 9				Stomach			Rectum			
Lane 10				Small Intestine			Cervix			
Lane 11				Colon			Uterus			
Lane 12				Rectum			Placenta			
Lane 13				Uterus						
Lane 14				Prostate						
Lane 15				Testis						
Lane 16				Placenta						

## Human Fetal Normal Tissue Total Protein Western Blot (ヒト胎児正常組織由来)

各レーンに50  $\mu$ gのTotal Proteinをプロット。  
 内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.						
メーカーコード	W1244413	W1244414	W1244415	W1244424	W1244425	
希望納入価格	¥125,000	¥125,000	¥125,000	¥150,000	¥200,000	
由来組織						
Lane 1	Brain	Heart	Frontal Lobe	Brain	Brain	
Lane 2	Kidney	Liver	Temporal Lobe	Kidney	Kidney	
Lane 3	Lung	Skeletal Muscle	Parietal Lobe	Lung	Lung	
Lane 4	Small Intestine	Skin	Occipital Lobe	Small Intestine	Small Intestine	
Lane 5	Human Placenta	Human Placenta	Human Placenta	Liver	Heart	
Lane 6				Skeletal Muscle	Liver	
Lane 7				Skin	Skeletal Muscle	
Lane 8				Human Placenta	Frontal Lobe	
Lane 9					Temporal Lobe	
Lane 10					Parietal Lobe	
Lane 11					Occipital Lobe	
Lane 12					Human Placenta	

### Human Tumor Tissue Total Protein Western Blot (ヒト腫瘍組織由来)

各腫瘍組織は同種の正常コントロール組織とペアになっている。  
各レーンに50 µgのTotal Proteinをプロット。  
内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.						
メーカーコード	W1235417	W1235418	W1235419	W1235420	W1235421	W1235422
希望納入価格	¥248,000	¥248,000	¥248,000	¥248,000	¥248,000	¥248,000
<b>由来組織</b>						
Lane 1	Colon	Breast	Kidney	Bladder	Liver	Ovary
Lane 2	Control	Control	Control	Control	Control	Control
Lane 3	Rectum	Uterus	Lung	Esophagus	Stomach	Uterus
Lane 4	Control	Control	Control	Control	Control	Control
Lane 5	Normal Placenta					

### Human Tumor Tissue Total Protein Western Blot Same Type (ヒト同種腫瘍組織由来)

3人の異なるドナ - の同種の腫瘍組織と正常コントロール組織由来Total Proteinをプロット。  
各レーンに50 µgのTotal Proteinをプロット。  
内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.										
メーカーコード	W1235086	W1235090	W1235106	W1235142	W1235149	W1235152	W1235183	W1235206	W1235248	W1235274
希望納入価格	¥248,000	¥248,000	¥248,000	¥248,000	¥248,000	¥248,000	照 会	¥248,000	¥248,000	¥248,000
<b>由来組織</b>										
Lane 1	Breast Tumor	Colon Tumor	Esophagus Tumor	Kidney Tumor	Liver Tumor	Lung Tumor	Ovary Tumor	Rectum Tumor	Stomach Tumor	Uterus Tumor
Lane 2	Breast Tumor	Colon Tumor	Esophagus Tumor	Kidney Tumor	Liver Tumor	Lung Tumor	Ovary Tumor	Rectum Tumor	Stomach Tumor	Uterus Tumor
Lane 3	Breast Tumor	Colon Tumor	Esophagus Tumor	Kidney Tumor	Liver Tumor	Lung Tumor	Ovary Tumor	Rectum Tumor	Stomach Tumor	Uterus Tumor
Lane 4	Normal Breast	Normal Colon	Normal Esophagus	Normal Kidney	Normal Liver	Normal Lung	Normal Ovary	Normal Rectum	Normal Stomach	Normal Uterus
Lane 5	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta	Normal Placenta

### Human Tumor Cell Line Total Protein Western Blot (ヒト腫瘍細胞系由来)

各レーンに50 µgのTotal Proteinをプロット。  
内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.	
メーカーコード	W1255865
希望納入価格	¥138,000
<b>由来組織</b>	
Lane 1	A431 ( Epidermoid Carcinoma )
Lane 2	HeLa ( Cervix Adenocarcinoma )
Lane 3	Jurkat ( Acute T Cell Leukemia )
Lane 4	K562 ( Chronic Myelogenous Leukemia; Bone Marrow )
Lane 5	MCF7 (Breast Adenocarcinoma )
Lane 6	Raji ( Lymphoma; B Lymphoma )
Lane 7	Human Placenta Tissue

### Mouse Adult Normal Tissue Total Protein Western Blot (マウス成体正常組織由来)

各レーンに50 µgのTotal Proteinをプロット。  
内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.	
メーカーコード	W1334423
希望納入価格	¥138,000
<b>由来組織</b>	
Lane 1	Heart
Lane 2	Brain
Lane 3	Kidney
Lane 4	Lung
Lane 5	Spleen
Lane 6	Skeletal Muscle
Lane 7	Small Intestine

**Rat Adult Normal Tissue Total Protein Western Blot (ラット成体正常組織由来)**

各レーンに50 μgのTotal Proteinをプロット。  
内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.	577-85101
メーカーコード	W1434423
希望納入価格	¥138,000
<b>由来組織</b>	
Lane 1	Heart
Lane 2	Brain
Lane 3	Kidney
Lane 4	Lung
Lane 5	Spleen
Lane 6	Skeletal Muscle
Lane 7	Small Intestine
Lane 8	Human Placenta

**Plant Normal Tissue Total Protein Western Blot (植物正常組織由来)**

各レーンに50 μgのTotal Proteinをプロット。  
内部コントロールにヒト成人正常胎盤組織由来Total Proteinを使用。

コードNo.	
メーカーコード	W1634301
希望納入価格	¥138,000
<b>由来組織</b>	
Lane 1	Arabidopsis
Lane 2	Corn
Lane 3	Orange
Lane 4	Potato
Lane 5	Soy Bean
Lane 6	Rice
Lane 7	Wheat
Lane 8	Human Placenta

製品内容の詳細については、

Bio Chain社カタログ・パンフレットおよび当社ホームページ

[ <http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/life/>

[biochain/biochainindex.htm](http://www.wako-chem.co.jp/biochain/biochainindex.htm) ]

をご覧ください。

**〔カタログ・パンフレット請求先〕**

Wako Bio Window係

E-mail : [biowin@wako-chem.co.jp](mailto:biowin@wako-chem.co.jp)

FAX : 06-6201-5964



I. T.

**TOCRIS社 生理活性物質**

**TOCRIS**



**A<sub>2B</sub> アデノシン受容体アンタゴニスト**

**MRS 1706 (メーカーCat. No. 1584)**

本品はヒトA<sub>2B</sub> アデノシン受容体の強力で選択的なアンタゴニストです。(K<sub>i</sub> = 1.39nM)

〔参考文献〕 Kim. *et al.*(2000): *J. Med. Chem.*, 43, 1165.

MRS 1706のヒトアデノシン受容体に対するK<sub>i</sub>値(nM)

	hA <sub>1</sub>	hA <sub>2A</sub>	hA <sub>2B</sub>	hA <sub>3</sub>
MRS 1706	157	112	1.39	230

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
576-72361	1584	MRS 1706	10mg	27,100
572-72363			50mg	117,600

## GSK-3 ( Glycogen Synthase Kinase-3 ) 阻害剤

### SB 216763 ( メーカーCat. No. 1616 )

本品は*in vitro*でATPに対する競合的阻害によって、GSK-3 を強力に阻害しますが、( $K_i = 9nM$ )PKA、PKC、MAPK、SAPK、AMPK、CK- 等の24のプロテインキナーゼには作用しません。(  $IC_{50} > 10 \mu M$  )

また本阻害剤は*in vitro*で細胞中のグリコーゲンシンターゼをGSK-3の直接的阻害を通して活性化します。またヒト肝細胞中のグリコーゲンシンターゼやHEK-293細胞中の  $\beta$ -カテニン調節レポーター遺伝子の発現を刺激します。GSK-3を通したプロテインキナーゼBのシグナリング阻害の結果、*in vitro*でのプライマリーニューロンにおいて神経保護作用を示します。

\* 本品はGlaxoSmithKline社とのライセンス契約により試験研究用の目的に限って販売されています。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
573-72371	1616	SB 216763	10mg	28,800
579-72373			50mg	125,500

## 新しい水溶性で経口使用可能なフォルスコリン誘導体

### NKH 477 Colforsin dapropate hydrochloride ( メーカーCat. No. 1603 )

本品は強力なアデニル酸シクラーゼ活性剤であるフォルスコリンの水溶性の誘導体です。

#### *in vitro*での活性

心臓のアデニル酸シクラーゼ(  $\beta$  型 ) に対して選択性を示し、フォルスコリンよりもより強力に作用します。分離したモルモットの気管において、本品は弛緩を強力に誘導します。(  $EC_{50} = 32.6nM$  )

#### *in vivo*での活性

イヌに対する経口または静脈内投与で、いずれにおいても、心拍数を増加させ、血圧を低下させる強力な心血管効果を示します。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
570-72381	1603	NKH 477	10mg	34,500
576-72383			50mg	151,750

## 非ペプチドPAR<sub>1</sub> アнтаゴニスト

### SCH 79797 dihydrochloride ( メーカーCat. No. 1592 )

本品はProteinase-activated receptor subtype 1 ( PAR<sub>1</sub> ) に対する低分子アンタゴニストで、PAR<sub>1</sub> に対する [ $^3H$ ] haTRAP( Ala-Ph( pF ) Arg-ChA-HArg[  $^3H$  ] Tyr-NH<sub>2</sub> ) の結合を競合的に阻害します。(  $IC_{50} : 70nM$  )

#### *in vitro*での選択性

本品は  $\alpha$ -トロンピン- 及び haTRAP- 誘導性のヒト血小板凝集を阻害します。ただし、  $\beta$ -トロンピン、ADP、コラーゲン又はPAR<sub>4</sub> tethered ligandによって誘導される凝集は阻害しません。また、トロンピンやTK( PAR<sub>1</sub> アゴニスト ) で誘導されたヒト冠動脈平滑筋細胞における一時的なCa<sup>2+</sup>量の上昇を阻害しますが、PAR<sub>2</sub> 選択性アゴニストであるSLIGKV-NH<sub>2</sub>によるそれらの誘導は阻害しません。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
577-72391	1592	SCH 79797 dihydrochloride	10mg	37,600
573-72393			50mg	164,900

U. T.

65 で完全不活化する

## アルカリフォスファターゼ溶液 エビ由来

Wako

アルカリフォスファターゼはDNAの5'末端のりん酸を脱リン酸化しベクターのセルフライゲーションを防ぐために使用されます。ウシ由来の酵素では脱リン酸後のフェノール/クロロホルム処理が煩雑でしたが、本品は65 で15分間、加熱するだけで簡単に失活させることができます。

### 【特長】

65 で完全に不活化する。  
加熱処理により失活するのでフェノール/クロロホルム処理が不必要。

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
544-02291	Alkaline Phosphatase Solution, from Shirimp	500units	9,700

I. K.

RNAの*in vitro* 転写に...

## NTP溶液

Wako

*in vitro*でのRNA合成に最適なNTP溶液です。分子生物学用グレードとして、DNaseフリー、RNaseフリーを保証しています。

### 【規格】

濃度：310～340mmol/l  
純度(HPLC)：97.0%以上  
DNaseフリー保証  
RNaseフリー保証

【保存条件】 - 20 ・ 遮光保存

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
010-19531	Adenosine 5'-Triphosphate Tetrasodium Solution	分子生物学用	40 μmol	照会
030-18911	Cytidine 5'-Triphosphate Tetrasodium Solution	分子生物学用	40 μmol	照会
075-04871	Guanosine 5'-Triphosphate Tetrasodium Solution	分子生物学用	40 μmol	照会
212-01101	Uridine 5'-Triphosphate Tetrasodium Solution	分子生物学用	40 μmol	照会

K. O.

Mg<sup>2+</sup>測定用蛍光プローブ

## KMG-20-AM

Wako

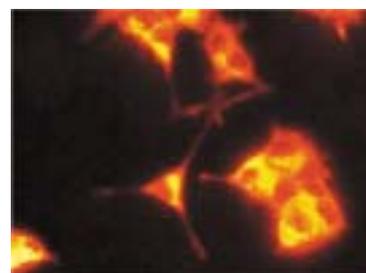
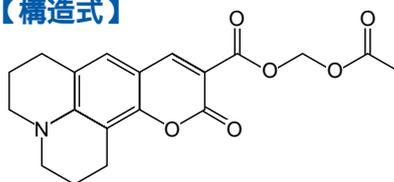
本品はMg<sup>2+</sup>を選択的に認識しますので、細胞内のMg<sup>2+</sup>の動態を見ることができます。また、本品はCa<sup>2+</sup>に対する感受性が低いため、より正確にMg<sup>2+</sup>を定量することができます。

【形状】 褐色粉末

【構造式】

【含量】 95.0%以上(HPLC)

【分子式】 C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>6</sub> = 357.36



PC12細胞にKMG-20-AMを投与したときの蛍光顕微鏡像

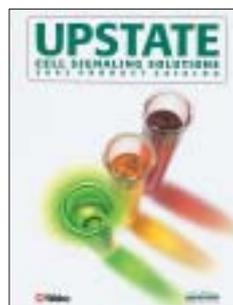
コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
110-00711	KMG-20-AM	細胞生物学用	1mg	10,000
116-00713			5mg	40,000

K. T.

## 2003年度版カタログ並びにリーフレットのご紹介

### 2003年カタログ

このカタログは、目的とするものを探し出すだけでなく、その製品がシグナリングのどの部分であるのかを、より明確に把握できるように工夫されています。抗体、酵素、基質、阻害剤とラインアップも一層充実しています。各々の研究ステージで目的に合った試薬を見つけて下さい。更にバイオツールの分野では様々なキット類、試薬を揃えておりますのであわせてカタログをご覧ください。



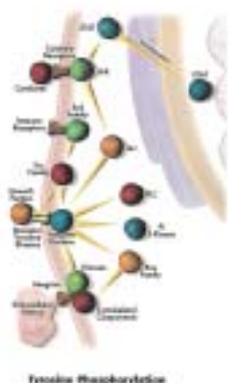
### リーフレット

#### Modification State-Specific Antibodies

セルシグナリングはタンパク質の構造変化やタンパク質間の複合体形成により制御を受けます。これらの変化は直接的なタンパク質修飾の後に誘導されることが知られています。このような修飾の例としてはりん酸化、アセチル化、メチル化、ニトロ化などが挙げられます。個々のタンパク質の修飾部位に特異的な抗体を上記の修飾反応毎にグルーピング化しました。リーフレットに応用例（測定、種）と共にまとめてあります。



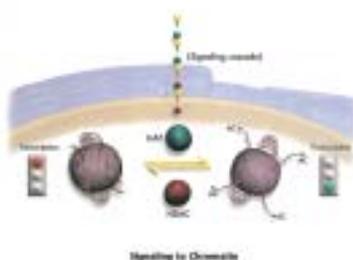
#### Tyrosine Phosphorylation



セルシグナル解明に有効な抗りん酸化チロシンの各種抗体、キット、コントロールをはじめ各種サイトカインレセプターをラインアップしております。



#### Histones



ヒストンのアセチル化などの修飾は従来からクロマチンドメイン機能のマーカースとして研究されてきました。最近ではメチル化ヒストン、りん酸化ヒストンとアポトーシスの関係等クロマチン研究のヒストンの重要性が高まっています。



### 〔カタログ・パンフレット請求先〕

Wako Bio Window 係  
E-mail : biowin@wako-chem.co.jp  
FAX : 06-6201-5964

# DNA定量キット



DNA定量キットは培養系の細胞数を簡便かつ迅速に定量することを目的として開発された測定キットです。同社の初代培養細胞キットを用いて各種機能をアッセイする際、培養系のDNAを測定し細胞あたりの機能を導き出すことができます。

## 【測定原理】

Hoechst 33258はDNAと結合し蛍光(485nm)物質を生成します。本キットを用いることによりDNAを精製することなく、細胞ホモジネート液に直接H33258を加えてDNA量を簡便かつ迅速に定量測定できます。また、同社の細胞機能測定キット(簡易型・酸性ムコ多糖定量キット、TRAPキット、GPDH活性測定キット)を用いた測定と測定サンプルを共有することができるようにバッファー系を選択しております。

## 【キット内容】(200検体用)

発色液 ..... 4ml × 1本  
緩衝液 ..... 125ml × 2本  
標準液 (DNA 100 μg/ml) ..... 2ml × 1本

## 【測定方法】

1. 標準液(DNA 100 μg/ml)を精製水で希釈し100 μg/ml(原液) 50 μg/ml、25 μg/ml、12.5 μg/ml、0 μg/ml濃度の標準液を調製してください。調製後の標準液は冷凍保存してください。
2. 培養皿、または培養プレートウェルに緩衝液を加えて超音波破碎し細胞をホモジネートしてください。
3. 細胞ホモジネート50 μlとり緩衝液1mlを加えさらに発色液50 μl加えて攪拌してください。
4. 上記溶液をEx : 356nm、Em : 458nmで蛍光を測定して下さい。

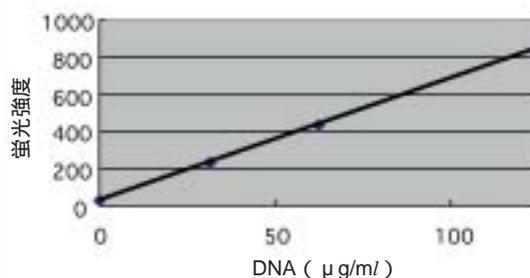
## 【使用例】

### DNA定量キットと酸性ムコ多糖定量キットを用いたスキャホールド内コンドロイチン硫酸とDNAの測定例

再生医療の一つとして各種スキャホールド内に軟骨細胞を培養し軟骨欠損部を修復する試みが行われています。この場合、培養系で軟骨基質を作りつつ軟骨細胞を増殖させる技術が必要です。簡易型・酸性ムコ多糖定量キットとDNA定量キットを用いることにより、スキャホールド内のコンドロイチン硫酸量及び、細胞増殖の指標としてDNAを同一サンプルから測定することが可能です。



DNA定量の検量線



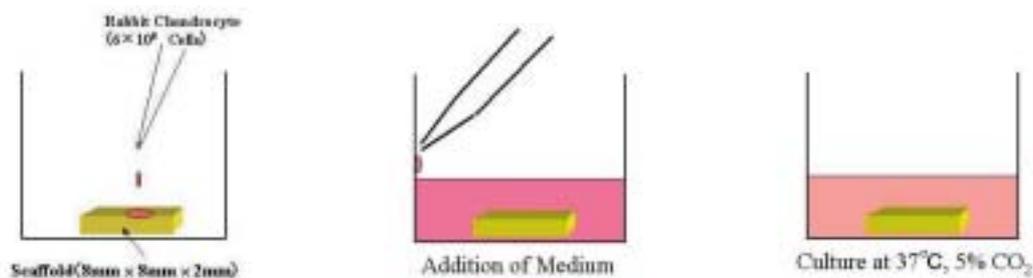
## 【実験例】

ウサギ軟骨細胞を培養した軟骨再生用スキャホールド内のコンドロイチン硫酸、及びDNAの定量

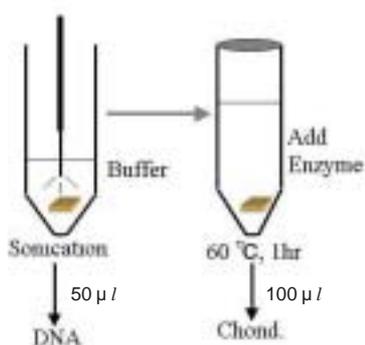
1) ウサギ関節軟骨組織をコラゲナーゼ処理し軟骨細胞を単離する。



2) 軟骨再生用スキャホールド内に培養する。

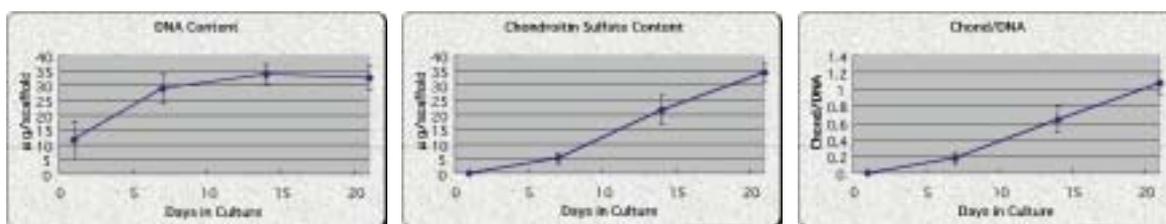


3) 継続的にスキャホールドを取り出し超音波破碎後、DNAとコンドロイチン硫酸を測定。



## 【結果】

スキャホールド内のDNA量は7日目ではほぼ飽和したがコンドロイチン硫酸は7日目以降も増えつづけた。DNA量に対するコンドロイチン硫酸の比率は7日目以降直線的に増えつづけ、培養系で軟骨組織が再生されていることが測定された。



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
300-14501	OP06	DNA定量キット	100検体用	30,000

## 【関連製品】

300-08871	OP03	簡易型・酸性ムコ多糖定量キット	100検体用	50,000
303-09721	OP04	TRAP染色キット	96ウェル×10枚	30,000
302-13341	OP01	GPDH活性測定キット	100検体用	50,000
300-08653	CUCC01	軟骨細胞培養キットF-8(ブタ関節軟骨)	25cm <sup>2</sup> フラスコ×8, 培地	130,000
303-14471	CUCC02	軟骨細胞培養キットP-4(ブタ関節軟骨)	96ウェルプレート×4, 培地	130,000
307-14491	CUCC03	鼻中隔軟骨細胞培養キットF-3(ラット鼻中隔軟骨)	25cm <sup>2</sup> フラスコ×3, 培地	130,000
300-14481	CUCC04	軟骨細胞培養キットF-8(ウサギ関節軟骨)	25cm <sup>2</sup> フラスコ×8, 培地	170,000

# HTS用細胞内カルシウム測定キット Calcium Kit - Fluo 3



Calcium Kit - Fluo 3は、細胞内Ca<sup>2+</sup>測定試薬であるFluo 3-AMと、その測定に必要なBuffer等を組み込んだ大量スクリーニングに最適なキットとなっております。細胞種や添加する薬剤などに応じて、Pluronic F-127またはCremophor EL( Fluo 3-AMの溶解補助剤 )、Probenecid( 陰イオントランスポーターの阻害剤 )の各濃度を任意に設定することが可能です。1キットで2,000アッセイ( 96穴プレート20枚分 )の測定が可能です。

## 【特長】

Probenecidや界面活性剤を別添付にしておりますので、任意に濃度設定が可能です。  
ハイスループットスクリーニングに用いられる各種蛍光プレートリーダーで測定可能です。  
96穴マイクロプレート、384穴マイクロプレートの両方に対応しています。

## 【測定方法】

### 細胞の培養

- 付着細胞を使用する際は一般に96穴プレートでは15,000cells/well、384穴プレートでは5,000cells/well程度の細胞を、一晚培養して使用することをお勧めします。
- 培養に用いる培地の量は、96穴プレートで100 μl/well、384穴プレートで25 μl/wellをお勧めします。

### Loading Bufferの調製 (マイクロプレート20枚分)

- 添付のDimethylsulfoxideから1mlを分取し、Fluo 3-AM1本(1mg)に加え、よく溶解する。
- 200mlスケールの容器を準備する。Recording Medium( 2× )100mlに、測定条件に応じて、任意の量の5%Pluronic F-127( または5% Cremophor EL )、250mmol/l Probenecidを添加し、これに全量が200mlとなるように純水を加え、よく混合する( 本キットは予め、測定に最適なpH7.4付近となるよう構成してあります。 )
- Fluo 3-AMのDimethylsulfoxide溶液 1ml を添加して、超音波などでよく溶解し、Loading Bufferとする。

## 【キット内容】

- ▶ Fluo 3 - AM ..... 1mg × 1本
  - ▶ Dimethylsulfoxide ..... 2ml × 1本
  - ▶ Recording Medium( 2× ) ..... 100ml × 2本
  - ▶ 250mmol/l Probenecid ..... 2.5ml × 1本
  - ▶ 5% Pluronic F-127 ..... 5ml × 1本
  - ▶ 5% Cremophor EL ..... 5ml × 1本
- 必要に応じて細胞洗浄用のPBSをご用意下さい。  
Kitには組み込まれておりません。

## 【注意事項】

本キットは、冷凍にて保存してください。  
Fluo 3-AM Dimethylsulfoxide溶液、Loading Buffer及びRecording Mediumは、用時調製してください。  
Fluo 3-AMをDimethylsulfoxideに溶かした状態で長期保存しますと、Fluo 3-AMが分解する可能性があります。Loading Bufferは、出来るだけ1回の操作で使い切ることをお勧めします。  
ご購入後、1年以内にご使用ください。

### Recording Medium ( 1× ) の調製 (マイクロプレート20枚分)

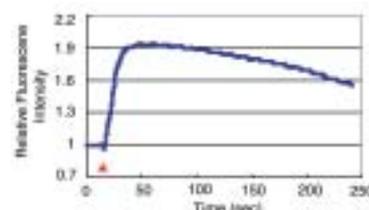
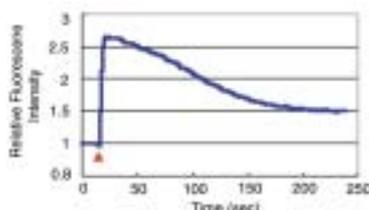
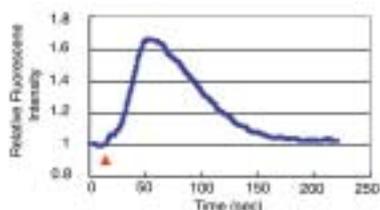
- 別途、200mlスケールの容器を準備する。Recording Medium( 2× )100mlに、測定条件に応じて、任意の量250mmol/l Probenecidを添加し、これに全量が200mlとなるように純水を加え、よく混合する( 本キットは予め、測定に最適なpH7.4付近となるよう構成してあります )
- 37 °C インキュベーター中で加温しておく。

### 細胞へのFluo 3-AMのロード

- 細胞を傷つけないように培地を取り除いた後、96穴プレートで100 μl/well、384穴プレートで25 μl/wellのLoading Bufferを、それぞれのwellに加える( 必要に応じて、Loading Bufferを添加する前に、37 °C に加温したPBSで細胞を洗浄して下さい )
- 37 °C で1時間、インキュベートする。
- 細胞を傷つけないようにLoading Bufferを取り除き、予め37 °C に加温しておいたRecording Medium ( 1× ) を96穴プレートで100 μl/well、384穴プレートで25 μl/wellずつ加える( 必要に応じて、Recording Mediumを添加する前に、37 °C に加温したPBSで細胞を洗浄して下さい )
- 薬剤添加による蛍光強度変化を、ハイスループットスクリーニング用の各種蛍光プレートリーダーで測定する。

## 【Calcium Kit - Fluo 3 使用例】

- 1)メラニン凝集ホルモン(MCH)受容体を発現させたCHO細胞(チャイニーズハムスター卵細胞、15,000cells/well)を10nmol// MCHで刺激した。
- 2) orexin B受容体を発現させたCHO細胞(チャイニーズハムスター卵細胞、15,000cells/well)を10nmol// orexinで刺激した。
- 3) SH-SY5Y細胞(ヒト神経芽腫細胞 15,000cells/well)を0.1nmol// ionomycinで刺激した。



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
342-90601	CS21	Calcium Kit - Fluo 3	2000回用	65,000

## 遺伝子損傷検出抗体

# 抗ニトログアノシン抗体



8-ニトログアノシンは発癌や遺伝子変異に関与した遺伝子障害の指標として注目されています。同仁化学では、熊本大学赤池孝章教授らのグループと共同で抗ニトログアノシン抗体を開発しました。

## Anti-Nitroguanosine polyclonal antibody

【用途】 ELISA(5 µg/ml)、免疫組織染色(10 µg/ml)

【免疫動物】 ウサギ

### 【特異性】

8-NO<sub>2</sub>-guanosine、8-NO<sub>2</sub>-guanineと反応する。  
guanosine、guanine、8-OH-guanine、3-NO<sub>2</sub>-tyrosineとは反応しない



インフルエンザウイルス感染マウスの肺上皮組織。8-ニトログアノシン、ポリクローナル抗体による免疫組織染色画像。

## Anti-Nitroguanosine monoclonal antibody (Clone # NO<sub>2</sub>G52)

【用途】 ELISA(1 µg/ml)、免疫組織染色(10 µg/ml)

【免疫動物】 マウス(BALB/c)

### 【特異性】

8-NO<sub>2</sub>-guanosine、8-NO<sub>2</sub>-guanineと反応する。  
guanosine、guanine、8-OH-guanine、3-NO<sub>2</sub>-tyrosineとは反応しない

発売を記念致しまして、お手軽にお試しできる10 µg包装を期間限定で販売致します。(平成15年8月12日まで)

### 【期間限定包装】

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
347-90651	AB02	抗ニトログアノシン モノクローナル抗体(クローン#NO <sub>2</sub> G52)	10 µg	16,000
344-90661	AB01	抗ニトログアノシン ポリクローナル抗体	10 µg	14,000

### 【通常取扱い品】

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
341-90671	AB02	抗ニトログアノシン モノクローナル抗体(クローン#NO <sub>2</sub> G52)	50 µg	65,000
348-90681	AB01	抗ニトログアノシン ポリクローナル抗体	50 µg	55,000
345-90691	N455	8-ニトログアノシン(凍結乾燥品)	100 µg	15,000

## 骨吸収抑制作用物質

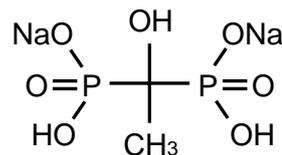
## エチドロン酸二ナトリウム

破骨細胞による骨吸収を抑制し、異所性骨化の進展を阻止する作用をもつビスフォスフォネート系化合物です。

## 【規格】

含量(滴定法): 95.65% (実測値)

pH (10g/l, 25 ): 4.2~5.2



$\text{C}_2\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7\text{P}_2=249.99$

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
058-07181	Disodium Etidronate	薬理研究用	200mg	4,000
054-07183			1g	9,500
052-07184			5g	30,000

## 骨代謝関連サイトカイン類

## BMP-14, ヒト, 組換え体(BMP14: 骨形成因子 14)

BMP-14/CDMP-1はヒト胚発生中、長骨において発現する軟骨形成の基本的にイニシエーターとして知られています。四肢の軟骨原基に発現するが体幹の骨には発現しない特長があります。TGF-スーパーファミリーの一つGDF-5 (Growth/differentiation factor-5) のヒト相同遺伝子産物です。

起源: Human bone morphogenetic protein 14 cDNA expressed in *E. coli*

形状: 凍結乾燥品(キャリアフリー)

エンドトキシン: 0.1ng/μg (1EU/μg) 以下

## PTHrP, ヒト, 組換え体(PTHrP: 副甲状腺ホルモン関連タンパク質)

PTHrP(Parathyroid Hormone Related Protein)はPTH(副甲状腺ホルモン)と相同なN末端アミノ酸配列を有し、その部分でPTH類似の作用があります。軟骨性骨形成などにおいては局所性のサイトカインとして作用し、また乳癌の骨転移の際にも重要な働きを示します。

起源: Human parathyroid hormone related protein cDNA expressed in *E. coli*

形状: 凍結乾燥品(キャリアフリー)

エンドトキシン: 0.1ng/μg (1EU/μg) 以下

## Shh, ヒト, 組換え体(Shh: ソニックヘッジホッグ)

Shhはヘッジホッグファミリーの一つであり、体軸の左右や肢芽の前後軸の決定などの形態形成に関与するサイトカインです。

起源: Human sonic hedgehog cDNA expressed in *E. coli*

形状: 凍結乾燥品(キャリアフリー)

エンドトキシン: 0.1ng/μg (1EU/μg) 以下

## M-CSF, マウス, 組換え体(M-CSF: マクロファージコロニー刺激因子)

M-CSFは単球、線維芽細胞および内皮細胞により産生されマクロファージコロニーを刺激し、単球およびマクロファージによる抗体依存性細胞障害を促進して破骨細胞の骨吸収を阻害します。

起源: Mouse macrophage colony stimulating factor cDNA expressed in *E. coli*

形状: 凍結乾燥品(キャリアフリー)

エンドトキシン: 0.1ng/μg (1EU/μg) 以下

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
023-14941	Bone Morphogenetic Protein 14, Human, recombinant	細胞生物学用	10 μg	39,000
165-21141	Parathyroid Hormone Related Protein, Human, recombinant	細胞生物学用	50 μg	39,000
199-12891	Sonic Hedgehog, Human, recombinant	細胞生物学用	25 μg	39,000
135-14391	Macrophage Colony Stimulating Factor, Mouse, recombinant	細胞生物学用	10 μg	39,000

## 【関連品】

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
133-13611	M-CSF, ヒト, 組換え体	生化学用	10 µg	39,000
139-13613			50 µg	148,000
184-01671	RANK( レセプター ), ヒト, 可溶性, 組換え体	生化学用	100 µg	37,000
182-01471	RANKリガンド, ヒト, 可溶性, 組換え体	生化学用	10 µg	37,000
186-01474			50 µg	148,000
188-01473			1mg	照会
184-01791	RANKリガンド, マウス, 可溶性, 組換え体	生化学用	10 µg	39,000
093-04911	イプリフラボン	生化学用	500mg	14,000
159-02321	オステオスタチン	生化学用	5mg	8,500
155-02323			25mg	30,000
157-02121	オステオプロテゲリン( 22-202 ), ヒト, 組換え体	生化学用	25 µg	59,000
013-18921	抗ヒト可溶性RANK( レセプター ), ウサギ	免疫化学用	50 µg	35,000
017-18441	抗ヒト可溶性RANKリガンド, ウサギ	免疫化学用	500 µg	35,000
026-14811	骨形成因子2, ヒト, 組換え体( BMP-2 )	生化学用	5 µg	35,000
023-14821	骨形成因子4, ヒト, 組換え体( BMP-4 )	生化学用	5 µg	35,000

## ホクドー社



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
301-08661	CUOB01	頭蓋骨由来骨芽細胞培養キットF-1( ラット )	1フラスコ	100,000
300-09731	OP05	象牙質切片, マンモス由来	24枚	30,000
300-08653	CUCC01	軟骨細胞培養キットF-8( ブタ )	8フラスコ	130,000
306-10181	CUOC04	破骨細胞培養キットV-1( マウス )	1vial	90,000
302-10183	CUOC03	破骨細胞培養キットV-2( マウス )	2vial	150,000
306-09711	CUOC02	破骨細胞培養キットV-2( ラット )	2vial	90,000
302-09713	CUOC01	破骨細胞培養キットV-4( ラット )	4vial	150,000
303-09721	OP04	TRAP染色キット	96ウェル×10枚用	30,000

## ゲンザイム社



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	ヒトAN'ALYZA BMP-4 イムノアッセイELISAキット	96回用	76,000
503-34551	10047	マウスAN'ALYZA OPG イムノアッセイ	96回用	76,000
500-34561	10040	マウスAN'ALYZA RANKL イムノアッセイキット	96回用	76,000

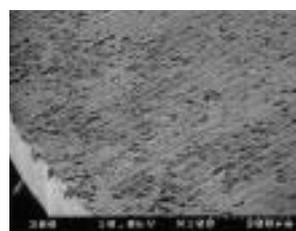
K. N.

## 破骨細胞の骨吸収能測定法「ピットフォーメーションアッセイ」に！ 象牙質切片、象牙由来



骨粗鬆症とは、骨吸収と骨形成のバランスが崩れ骨吸収が骨形成よりも亢進するために起こる疾患で、高齢化社会への移行に伴い患者数は増加しています。現在、骨吸収抑制剤の開発研究が盛んに行われている中、破骨細胞の骨吸収能を測定することは重要な手段です。ピットフォーメーションアッセイでは、象牙質切片上で培養した破骨細胞が形成するピット(吸収窩)をヘマトキシリン染色し光学顕微鏡で観察したり、電子顕微鏡で観察することでピットの数、面積などから破骨細胞の骨吸収能を評価します。

本品は、良質の本象牙から加工しており、ピットフォーメーションに適しています。切片厚は150 µm、300 µmの2種類です。実験に合わせてお選び下さい。



象牙質切片上に形成されたピットの走査型電子顕微鏡写真(300 µm厚切片)

### 【加工方法】

象牙の象牙質部分から2種類の厚さの切片を作製後、無菌蒸留水で超音波洗浄し、70%エタノールで滅菌、最後に紫外線照射により滅菌しています。

コードNo.	品名	規格	包装	希望納入価格(円)
044-28621	象牙質切片、象牙由来 [6mm(直径)×150 µm(厚)]	生化学用	24枚	36,000
041-28631	象牙質切片、象牙由来 [6mm(直径)×300 µm(厚)]	生化学用	24枚	39,000

K. N.

脂質研究に...

## イノシトールりん脂質代謝関連物質

Wako

脂質は細胞内情報伝達系に重要な役割を担っています。さらにイノシトールりん脂質をはじめ、様々な脂質そのものが脂質結合ドメインを介してタンパク質活性を制御していることが知られています。この度、イノシトールりん脂質代謝関連物質の品揃えが充実しました。実験系により、オクタノイル基側鎖 (diC8)、パルミトイル基側鎖 (diC16) を選択頂けます。脂質研究に是非ご利用下さい。

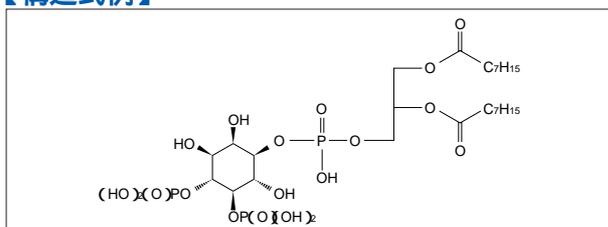
### 【各製品共通規格】

- ▶凍結乾燥品、合成品
- ▶含量：98%以上 (NMR)

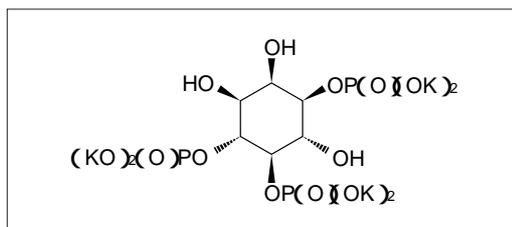
### 【側鎖による特長】

diC8：di-octanoyl、水系溶媒に可溶  
 diC16：di-palmitoyl、有機溶媒に可溶  
 (例：クロロホルム、DMSO)

### 【構造式例】



【PI(4,5)P<sub>2</sub>(diC8)】



【Ins(1,4,5)P<sub>3</sub>】

### PIPs(diC8)シリーズ **NEW**

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
549-02361	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3-Monophosphate( diC8 【P(3)P(diC8)】)	200 μg	27,000
546-02371	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 4-Monophosphate( diC8 【P(4)P(diC8)】)	200 μg	27,000
543-02381	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 5-Monophosphate( diC8 【P(5)P(diC8)】)	200 μg	27,000
545-02341	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3,4-Diphosphate( diC8 【P(3,4)P <sub>2</sub> (diC8)】)	200 μg	39,500
542-02351	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3,5-Diphosphate( diC8 【P(3,5)P <sub>2</sub> (diC8)】)	200 μg	39,500
540-02391	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 4,5-Diphosphate( diC8 【P(4,5)P <sub>2</sub> (diC8)】)	500 μg	31,000
541-02321	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3,4,5-Triphosphate( diC8 【P(3,4,5)P <sub>3</sub> (diC8)】)	200 μg	42,000

### PIPs(diC16)シリーズ

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
549-01881	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3-Monophosphate( diC16 【P(3)P(diC16)】)	200 μg	30,000
545-01481	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 4-Monophosphate( diC16 【P(4)P(diC16)】)	1mg	25,000
546-01891	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 5-Monophosphate( diC16 【P(5)P(diC16)】)	200 μg	39,000
548-01851	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3,4-Diphosphate( diC16 【P(3,4)P <sub>2</sub> (diC16)】)	200 μg	32,000
545-01861	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3,5-Diphosphate( diC16 【P(3,5)P <sub>2</sub> (diC16)】)	200 μg	41,000
548-01471	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 4,5-Diphosphate( diC16 【P(4,5)P <sub>2</sub> (diC16)】)	500 μg	30,000
542-01871	L- -Phosphatidyl-D- <i>myo</i> -Inositol 3,4,5-Triphosphate( diC16 【P(3,4,5)P <sub>3</sub> (diC16)】)	200 μg	44,000

### 【関連製品】

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
542-01491	D- <i>myo</i> -Inositol 1,4-Diphosphate Tetrapotassium Salt【Ins(1,4)P <sub>2</sub> 】	500 μg	48,000
545-01501	D- <i>myo</i> -Inositol 4,5-Diphosphate Tetrapotassium Salt【Ins(4,5)P <sub>2</sub> 】	200 μg	45,000
543-01781	D- <i>myo</i> -Inositol 1,3,4-Triphosphate Hexapotassium Salt【Ins(1,3,4)P <sub>3</sub> 】	500 μg	50,000
541-01461	D- <i>myo</i> -Inositol 1,4,5-Triphosphate Hexapotassium Salt【Ins(1,4,5)P <sub>3</sub> 】	1mg	36,000
540-01791	D- <i>myo</i> -Inositol 1,5,6-Triphosphate Hexapotassium Salt【Ins(1,5,6)P <sub>3</sub> 】	200 μg	50,000
546-01771	D- <i>myo</i> -Inositol 2,4,5-Triphosphate Hexapotassium Salt【Ins(2,4,5)P <sub>3</sub> 】	200 μg	50,000
540-01811	D- <i>myo</i> -Inositol 1,2,5,6-Tetraphosphate Octapotassium Salt【Ins(1,2,5,6)P <sub>4</sub> 】	200 μg	50,000
544-01451	D- <i>myo</i> -Inositol 1,3,4,5-Tetraphosphate Octapotassium Salt【Ins(1,3,4,5)P <sub>4</sub> 】	500 μg	57,000
544-01831	D- <i>myo</i> -Inositol 1,3,4,6-Tetraphosphate Octapotassium Salt【Ins(1,3,4,6)P <sub>4</sub> 】	200 μg	50,000
543-01801	D- <i>myo</i> -Inositol 1,4,5,6-Tetraphosphate Octapotassium Salt【Ins(1,4,5,6)P <sub>4</sub> 】	200 μg	50,000
547-01821	D- <i>myo</i> -Inositol 3,4,5,6-Tetraphosphate Octapotassium Salt【Ins(3,4,5,6)P <sub>4</sub> 】	200 μg	50,000
541-01841	D- <i>myo</i> -Inositol 1,3,4,5,6-Pentaphosphate Decapotassium Salt【Ins(1,3,4,5,6)P <sub>5</sub> 】	200 μg	45,000

K. N.

好中球の化学走性を定量するキット

ORPEGEN<sup>®</sup> Pharma



食細胞の作用はいくつかの主な段階に分けられますが、細胞が走化性因子の濃度勾配に従って炎症部位に向かって移動する化学走性は、その最初のステップです。

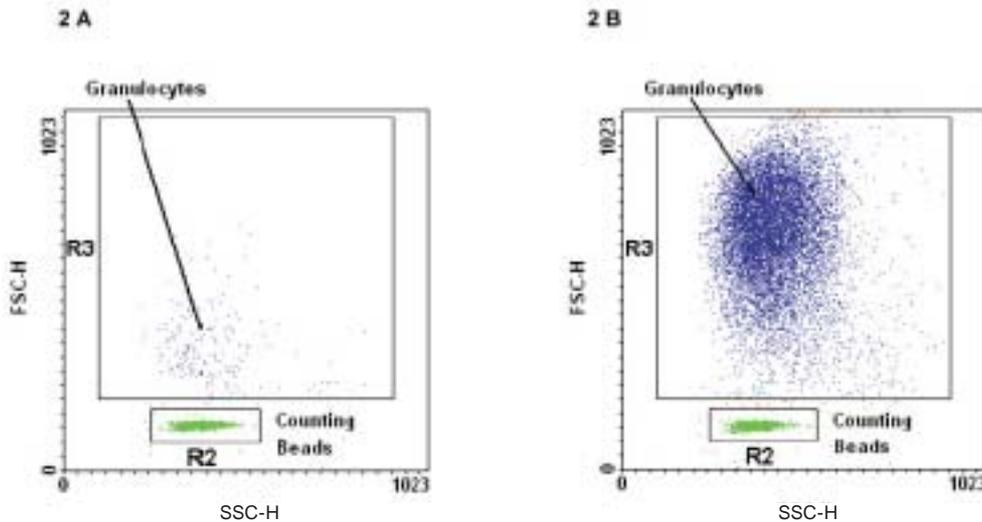
MIGRATEST<sup>®</sup>は好中球の化学走性をフローサイトメーターで測定するキットです。

化学誘引物質fMLPの濃度勾配に従って、3.0µmの孔径を持つcell culture insertsを通して移動した細胞数を測定します。また、前方散乱光の変化の検出により、細胞接着分子LECAM-1の発現量の減少と同時に、細胞移動に先立って起こる細胞の形態変化も分析することができます。

【キット内容】

- ▶ Cell Culture Inserts ..... 24個
- ▶ 24-well dishes ..... 2個
- ▶ Separation medium ..... 12via( 1ml )
- ▶ fMLP ..... 1via( 100 µ l )
- ▶ Staining/Counting Reagent ..... 1bottle( 0.5ml )
- ▶ Incubation Buffer ..... 1via( 20ml )
- ▶ vital DNA Staining Solution ..... 1via( 100 µ l )

Recommended gating during data acquisition, data are acquired by using fluorescence triggering in the FL3 channel (red fluorescence >630 nm). Region 1 set on leukocytes and counting beads.  
 Typical dot plot (SSC/FC) display during data acquisition and analysis, gate set on region 1 (set on leukocytes and counting beads)  
 Region 2 set on counting beads, region 3 set on granulocytes  
 A) Region 2 set on counting beads, region 3 set on granulocytes, **negative control sample**  
 B) Region 2 set on counting beads, region 3 set on granulocytes, **positive control sample**  
 Note: Shape change of the granulocytes (FSC-H signal)



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
	10-0800	MIGRATEST <sup>®</sup>	24回用	130,000

[保存：冷蔵]

【関連製品】

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)	用途
500-27971	10-0100	PHAGOTEST <sup>®</sup>	100回用	150,000	単球、顆粒球の貪食活性の測定
507-27981	10-0200	BURSTTEST <sup>®</sup> ( PHAGOBURST )	100回用	165,000	単球、顆粒球の酸化障害活性の測定
504-27991	10-0500	BASOTEST <sup>®</sup>	100回用	150,000	好塩基球の脱顆粒の測定
501-28001	10-0300	LDL-RECEPTORTEST <sup>®</sup>	50回用	240,000	単球のLDLレセプター発現の測定
	10-0450	NKTEST <sup>®</sup>	20回用	120,000	NK細胞の細胞障害活性の測定
	10-0400		100回用	270,000	

U. T.

手軽・シャープに / 再現性良く・低コスト 電気泳動用プレキャストゲル



## SuperSep™(スーパーセップ™)

本品は、ポリアクリルアミドのプレキャストゲルです。ゲル中には、SDSは含まれておりませんので、SDS-PAGEとNative-PAGEの両方に使用できます。

## 【特長】

- 低コスト!(1,200円/1枚)
- 使用期限は6ヶ月と長期!
- 濃縮ゲルにより、バンドがシャープ!
- 再現性が良い!
- 8連ピペット対応!(17wellのみ)
- SDS-PAGEとNative-PAGE対応!
- タンパク質、核酸(DNA)対応!



## 【仕様】

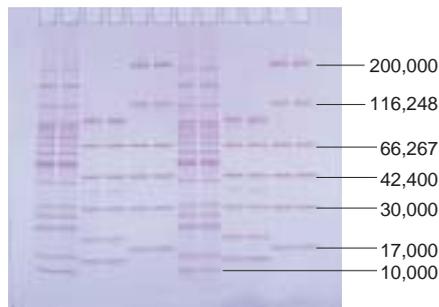
- プレートサイズ : 100(H)×100(W)×3(T)mm
- ゲルサイズ : 85(H)×90(W)×1(T)mm
- ウェル数 : 12well, 17well
- ウェル容積 : 35μl(12well) 25μl(17well)

## 【泳動条件】

- サンプルバッファー : Laemmli法サンプルバッファー
- 泳動バッファー : トリス/グリシン/SDS
- 泳動電流 : 20mA定電流/1枚
- 染色 : CBB染色、銀染色、ネガティブ染色、蛍光染色など

## 【染色例】

## Quick CBBを用いたCBB染色



- ゲル : SuperSep™ 5-20%, 12well [コードNo.194-12961]
- 泳動バッファー : Running Buffer Soln.(×10) [コードNo.184-01291]
- サンプルバッファー : Sample Buffer Soln.(×2, 2-Me<sup>+</sup>) [コードNo.196-11022]
- サンプル
- Lane 1, 2, 7, 8 : ラダーマーカー
- Lane 3, 4, 9, 10 : 低分子量マーカー
- Lane 5, 6, 11, 12 : 高分子量マーカー

コードNo.	品名	濃縮ゲル	分画分子量範囲 (核酸のbp)	容量	希望納入価格(円)
192-12901	SuperSep™ 7.5%,12well	5%	40,000 ~ 200,000 (100 ~ 2,000)	10枚	12,000
199-12911	SuperSep™ 7.5%,17well			10枚	12,000
196-12921	SuperSep™ 10%,12well	5%	20,000 ~ 130,000 (50 ~ 500)	10枚	12,000
193-12931	SuperSep™ 10%,17well			10枚	12,000
190-12941	SuperSep™ 12.5%,12well	5%	14,000 ~ 80,000 (30 ~ 300)	10枚	12,000
197-12951	SuperSep™ 12.5%,17well			10枚	12,000
194-12961	SuperSep™ 5-20%,12well	-	10,000 ~ 200,000 (50 ~ 750)	10枚	12,000
191-12971	SuperSep™ 5-20%,17well			10枚	12,000
198-12981	SuperSep™ 10-20%,12well	-	10,000 ~ 130,000 (50 ~ 500)	10枚	12,000
195-12991	SuperSep™ 10-20%,17well			10枚	12,000

## 【関連商品】

299-50101	Quick CBB	2l	9,000
196-11022	Sample Buffer Soln. (×2, 2-Me <sup>+</sup> )	25ml	3,100
193-11032	Sample Buffer Soln. (×2, 2-Me <sup>-</sup> )	25ml	3,100
184-01291	Running Buffer Soln. (×10)	1l	5,200

【保存条件】 2~10 保存(凍結不可)

K.T.A.

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) 68-2278(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

機器の問合わせ先 06-6203-2759 / 03-3270-8124 03.210.7学<sub>01F</sub><http://www.wako-chem.co.jp/>