

# 2

FEB. 2006

No.73

# Wako

# Bio Window

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

## CONTENTS

### 遺伝子

ALLIANCE Technology社 siScreen.....	p.6
島津製作所 Transdirect™ insect cell .....	p.7
Novagen社 InsectDirect™ システム.....	p.8
<i>S.cerevisiae</i> Direct Transformation Kit Wako.....	p.10
amaxa社 Mouse, Rat Hepatocyte用キット .....	p.11
DsDD cDNA Subtraction Kit Wako.....	p.12
ニッポンジーン TA-Blunt Ligation Kit .....	p.13
Evrogen社 p2FP-RNAi vector.....	p.14
DNA Ligase .....	p.15

### タンパク質

銀染色用タンパク質サイズマーカー.....	p.2
未着色タンパク質サイズマーカー.....	p.2
ワイドビュー™ プレステインタンパク質サイズマーカー.....	p.3
ワイドビュー™ ウェスタンサイズマーカー.....	p.3
MALDI-TOF/MSによるプロテオーム解析関連試薬.....	p.4
R&D社 Proteome Profiler™ Human Phospho-MAPK Array Kit .....	p.5

### 蛍光・発光

DMT社 HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit-NH <sub>2</sub> HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit-NH <sub>2</sub> .....	p.15
AnaSpec社 HiLyte Fluor™ 標識二次抗体 .....	p.16

### 生理活性

ペプチド研究所 Obestatin .....	p.20
-------------------------	------

### 機器・機材

ニッピ バイオマッシャー® .....	p.19
---------------------	------

### その他

ジェノメンブレン トラスポーター解析用試薬 .....	p.18
-----------------------------	------

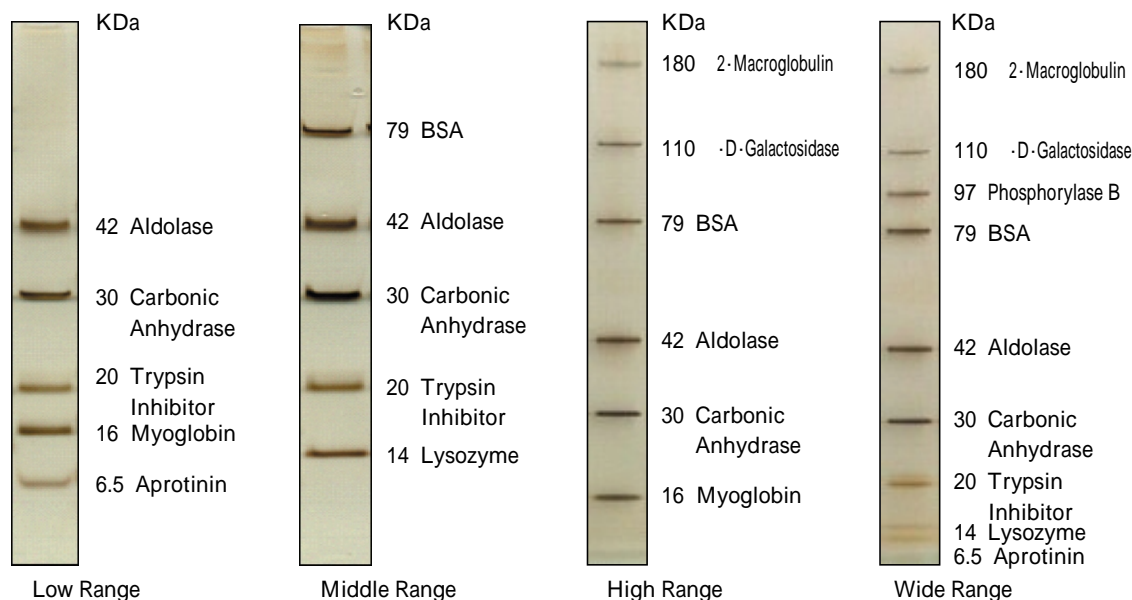
### お知らせ

学会案内.....	p.14
エンドキシンセミナー2006案内 .....	p.17

# 銀染色用タンパク質サイズマーカー



本品は、銀染色用に最適化されたタンパク質サイズマーカーです。含まれるマーカータンパク質は、還元アルキル化されているため、シャープで均一なタンパク質バンドが得られます。



電気泳動ゲル：スーパーセップHG, 5-20%, 12ウェル(コードNo. 195-13611)

銀染色キット：銀染色 キット(コードNo. 291-50301)

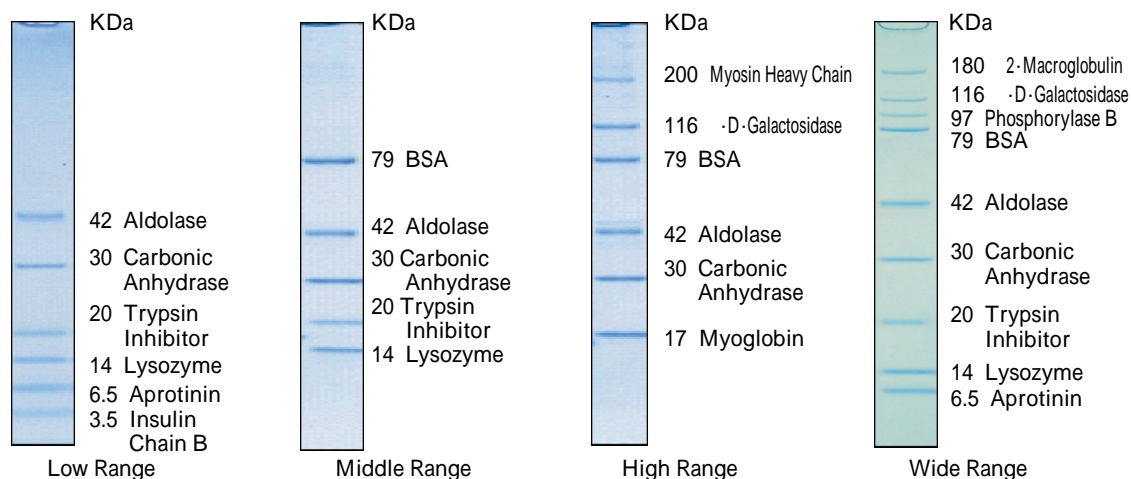
番号	コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
	196-14001	Silver Stain MW Marker, Low Range	6ml/用(約600回用)	12,000
	193-14011	Silver Stain MW Marker, Middle Range	6ml/用(約600回用)	12,000
	190-14021	Silver Stain MW Marker, High Range	6ml/用(約600回用)	12,000
	197-14031	Silver Stain MW Marker, Wide Range	6ml/用(約600回用)	12,000

K.T.A.

# 未着色タンパク質サイズマーカー



本品は、タンパク質の分子量サイズマーカーです。含まれる各タンパク質は、還元アルキル化処理されていますので、シャープで均一なタンパク質バンドが得られます。



電気泳動ゲル：スーパーセップHG, 10-20%, 12ウェル(コードNo. 199-13631)

スーパーセップ5-20%, 12ウェル(コードNo. 194-12961)

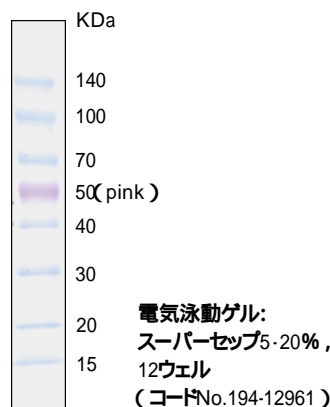
C B B 染色：クイックCBB(コードNo. 299-50101)

番号	コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
	294-63101	Molecular Weight Marker, Low Range	1ml/用(約200回用)	9,800
	131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range	1ml/用(約200回用)	9,800
	134-14501	Molecular Weight Marker, High Range	1ml/用(約200回用)	9,800
	296-63301	Molecular Weight Marker, Wide Range	1ml/用(約200回用)	9,800

K.T.A.

# ワイドビュー™プレステイン タンパク質サイズマーカー

本品は、着色済みのタンパク質サイズマーカーです。含まれる8つのリコンビナントタンパク質には、青色と赤色の発色団が共有結合しており、50kDaのバンドはピンク色、その他のバンドは青色を呈します。また、溶解後はオイルなしでそのまま使用できる簡単設計です。



## 【特長】

2色のバンドで分子量の確認が容易。  
溶解後、そのまま使用可能。

【推奨アプライ量】 5・10μl / lane

【分子量範囲】 15・150 (kDa)

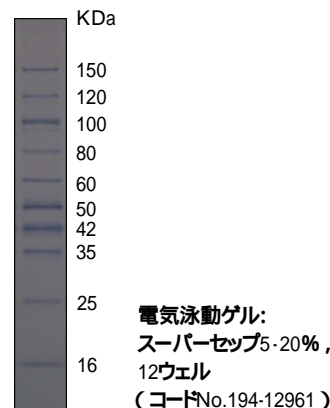
【保存条件】 -20 保存

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker	500μl (約100回用)	18,000

K.T.A.

# ワイドビュー™ウエスタンサイズマーカー

本品は、ウエスタン用のタンパク質サイズマーカーです。免疫グロブリンと結合能を持つリコンビナントタンパク質(プロテインG)により、ウエスタンプロットの一次抗体、二次抗体の両方に反応します。さらに、リコンビナントタンパク質は高純度に精製されていますので、シャープではっきりしたバンドが得られます。また、分子量は正確で再現性のある結果が得られます。



## 【特長】

ウエスタンプロットで、直接マーカーが確認できる。  
バンドの分子量が広範囲。(16・150kDa)  
マウス、ウサギの両方の抗体に反応。  
使用方法が簡便。  
正確な分子量が求められる。

【推奨アプライ量】 1・5μl / lane

【分子量範囲】 16・150 (kDa)

【保存条件】 -20 保存

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
233-02211	WIDE-VIEW™ Western Size Marker	250μl (約50・250回用)	20,000

K.T.A.

## 【スーパーセップ™(プレキャストゲル)シリーズ】

スーパーセップ™は保存安定性、再現性が良いうえに、ウエスタンプロットの転写効率に優れています。

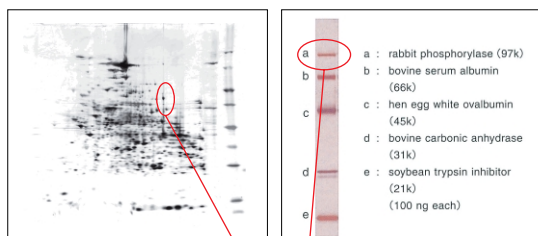
コードNo.	品名	分画分子量範囲(核酸のbp)	ウェル数	容量	希望納入価格(円)
195-13611	SuperSep™ HG, 5・20%	10,000 ~ 200,000 (50 ~ 750)	12well	10枚	15,000
192-13621			17well	10枚	15,000
199-13631	SuperSep™ HG, 10・20%	10,000 ~ 130,000 (50 ~ 500)	12well	10枚	15,000
196-13641			17well	10枚	15,000
192-12901	SuperSep™7.5%,	40,000 ~ 200,000 (100 ~ 2,000)	12well	10枚	12,000
199-12911			17well	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™10%,	20,000 ~ 130,000 (50 ~ 500)	12well	10枚	12,000
193-12931			17well	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™12.5%,	14,000 ~ 80,000 (30 ~ 300)	12well	10枚	12,000
197-12951			17well	10枚	12,000
194-13061	SuperSep™15%,	6,000 ~ 60,000 (20 ~ 300)	12well	10枚	18,000
191-13071			17well	10枚	18,000
194-12961	SuperSep™5・20%,	10,000 ~ 200,000 (50 ~ 750)	12well	10枚	12,000
191-12971			17well	10枚	12,000
198-12981	SuperSep™10・20%,	10,000 ~ 130,000 (50 ~ 500)	12well	10枚	12,000
195-12991			17well	10枚	12,000
190-13301	SuperSep™12.5%,	14,000 ~ 80,000(30 ~ 300)	2D	10枚	18,000
197-13291	SuperSep™5・20%,	10,000 ~ 200,000(50 ~ 750)	2D	10枚	18,000

K.T.A.

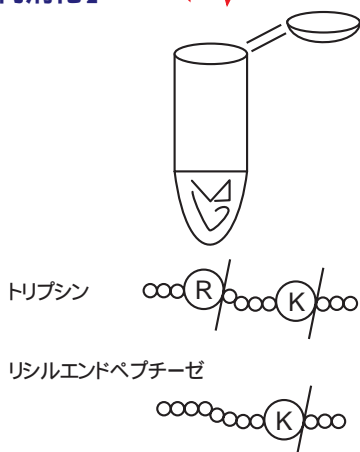
# MALDI-TOF/MSによるプロテオーム解析関連試薬

当社では、MALDI-TOF/MSを用いたプロテオーム解析に使用する商品群を取り揃えております。和光オリジナルの商品群を中心に実験の流れに沿ってご紹介させていただきます。

## 【タンパク質の分離、染色】



## 【ゲル内消化】

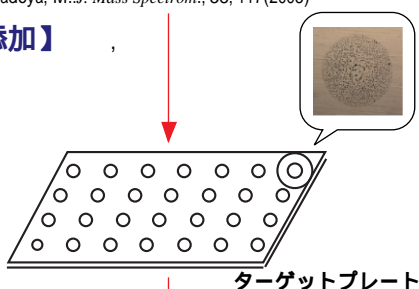


さらに、トリプシンとリシルエンドペプチダーゼを併用するとリシン残基の切断の確実性が増し、得られるペプチド数が増加します。

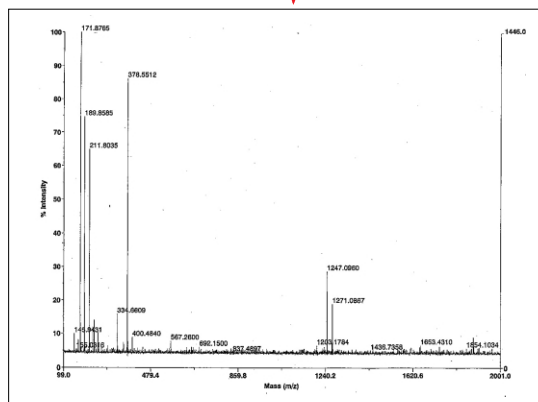
### 参考文献

Wada, Y., and Kadoya, M.: *J. Mass Spectrom.*, 38, 117(2003)

## 【試料の添加】



## 【質量分析】



コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
--------	----	----	-----------

### ポリアクリルアミドプレキャストゲル

高分離のHigh Grade( HG )タイプと使用期限の長い通常タイプの2種類があります。

192-12901	SuperSep™ 7.5%,12well	10枚	12,000
199-12911	SuperSep™ 7.5%,17well	10枚	12,000
196-12921	SuperSep™ 10%,12well	10枚	12,000
193-12931	SuperSep™ 10%,17well	10枚	12,000
190-12941	SuperSep™ 12.5%,12well	10枚	12,000
197-12951	SuperSep™ 12.5%,17well	10枚	12,000
194-13061	SuperSep™ 15%,12well	10枚	18,000
191-13071	SuperSep™ 15%,17well	10枚	18,000
194-12961	SuperSep™ 5-20%,12well	10枚	12,000
191-12971	SuperSep™ 5-20%,17well	10枚	12,000
195-13611	SuperSep™ HG,5-20%,12well	10枚	15,000
192-13621	SuperSep™ HG,5-20%,17well	10枚	15,000
198-12981	SuperSep™ 10-20%,12well	10枚	12,000
195-12991	SuperSep™ 10-20%,17well	10枚	12,000
199-13631	SuperSep™ HG,10-20%,12well	10枚	15,000
196-13641	SuperSep™ HG,10-20%,17well	10枚	15,000
190-13301	SuperSep™ 12.5%, 2D	10枚	18,000
197-13291	SuperSep™ 5-20%, 2D	10枚	18,000

### MS用染色キット

銀染色MSキットはグルタルアルデヒドを含まずMSに最適です。ネガティブ染色MSキットはタンパク質が色素による修飾を受けずMSに有効です。

299-58901	Silver Stain MS Kit	20回用	19,000
293-57701	Negative Gel Stain MS Kit	20回用	13,000

### ゲル内消化酵素

リシルエンドペプチダーゼは切断部位を特異的かつ効率的に分解できます。トリプシンは還元メチル化処理により自己消化を抑えています。

125-05061	Lysyl Endopeptidase, Mass Spectrometry Grade	20µg×5本	15,000
202-15951	Trypsin, from Porcine Pancreas, Mass Spectrometry Grade	20µg×5本	15,000

### 高純度マトリックス

再結晶処理で高純度に精製されており、均一な粒径の混合結晶が得られます。その結果、マススペクトルのSN比が向上します。

037-19261	-Cyano-4-hydroxycinnamic Acid (CHCA)	50mg×5本	20,000
192-13361	Sinapic Acid (SA)	50mg×5本	20,000
044-29101	2,5-Dihydroxybenzoic Acid (DHB)	50mg×5本	20,000

### カチオン化マトリックス

カチオン化剤としてDHBと9:1の割合で混合すると、シアル酸含有糖鎖・糖脂質サンプルにおいてマススペクトルのイオン強度の改善やシアル酸脱離の抑制などの効果が得られます。

041-29471	2,5-Dihydroxybenzoic Acid Sodium Salt (DHB Sodium Salt)	50mg	15,000
048-29481	2,5-Dihydroxybenzoic Acid Lithium Salt (DHB Lithium Salt)	50mg	15,000

K.T.A.



# Proteome Profiler™ Human Phospho-MAPK Array Kit

キナーゼのりん酸化レベルを解析することは、そのシグナルが持つ役割を解明するのに必要不可欠です。本品は、マップキナーゼ(MPAK)カスケードにおけるシグナル群のりん酸化を一括で検出するためのキットであり、検出にはStreptavidin-HRPによる化学発光法を用います。免疫沈降やウェスタンブロット法を繰り返す必要がないので、非常に経済的です。

## 【特長】

- 抗体交差性が低い。
- 5時間で定量できる。
- 必要なサンプル量が少なくすむ。
- IF(免疫沈降)・ウェスタンブロット法の感度に匹敵。

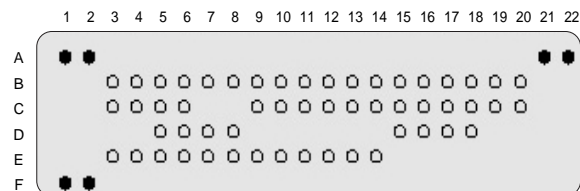
## 【サンプル】

細胞ライセート

## 【キット内容】

- ▶ Phospho MAPK Array .....4枚
- ▶ Array Buffer(3種類)..... 3本
- ▶ Lysis Buffer .....1本
- ▶ Wash Buffer(×25).....2本
- ▶ Anti-Phospho-MAPK  
Detection Antibody Cocktail .....1本
- ▶ Streptavidin-HRP .....1本
- ▶ 4-Well Rectangular multi-dish .....1枚
- ▶ Transparency Overlay Template .....1枚
- ▶ その他、化学発光基質(557-72171)が別途必要です。

## 【各捕獲抗体一覧・マップ】

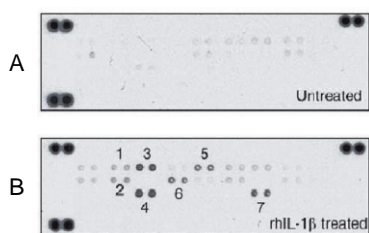


位置	ターゲット	位置	ターゲット
A1 A2	Control(+)	C13 C14	RSK2
A21 A22	Control(+)	C15 C16	GSK-3
B3 B4	ERK1	C17 C18	Akt3
B5 B6	JNK1	C19 C20	Akt pan
B7 B8	JNK pan	D5 D6	JNK3
B9 B10	p38	D7 D8	MSK2
B11 B12	p38	D15 D16	HSP27
B13 B14	RSK1	D17 D18	p70 S6 Kinase
B15 B16	GSK-3 /	E3 E4	Control(-)
B17 B18	Akt1	E5 E6	Control(-)
B19 B20	Akt2	E7 E8	Control(-)
C3 C4	ERK2	E9 E10	Control(-)
C5 C6	JNK2	E11 E12	Control(-)
C9 C10	p38	E13 E14	Control(-)
C11 C12	p38	F1 F2	Control(+)

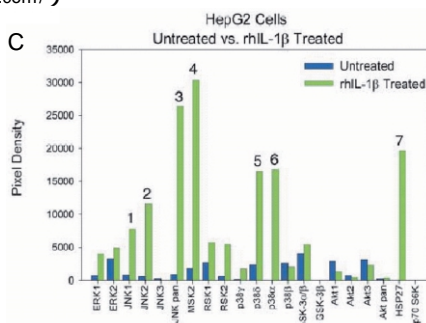
コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
554-81471	ARY002	Proteome Profiler™ Human Phospho-MAPK Array Kit	1kit	104,000

製品説明書はホームページから入手できます。(http://rndsystems.com/)

## 【解析例】



IL-1 で30分処理したHep G2細胞のライセート200µgをサンプルとして用い、その結果(写真上、A:未処理 B:IL-1 で30分間処理)を画像ソフトで解析した。(C)



## 【関連製品】

### WesternGlo™ Chemiluminescent Detection Standard

本品は、HRP標識二次抗体と組み合わせて使用することを考えて開発したルミノールベースの化学発光基質です。A液とB液を等量ずつ混合してご使用ください。1セットでメンブレン(8.5cm×6.5cm)60枚以上(面積にして2700cm<sup>2</sup>以上)に使用できます。R&D社製品の1部キットと併せてご使用ください。

### Proteome Profiler™ Human Phospho-RTK Array Kit

本品は、ヒトの各種レセプターチロシンキナーゼ(RTK)に対する抗体42種類をメンブレンにスポットしたアレイキットです。細胞溶解液中の各RTKのりん酸化レベルの測定が可能です。ご使用の際は別途化学発光基質(557-72171)が必要になります。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
557-72171	AR004	WesternGlo™ Chemiluminescent Detection Standard (WesternGloA液 100 ml+ WesternGloB液 100 ml)	1PK	21,000
550-72161	ARY001	Proteome Profiler™ Human Phospho-RTK Array Kit	1kit	83,000

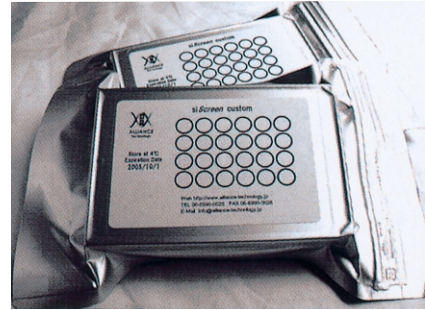
製品説明書はホームページから入手できます。(http://rndsystems.com/)

U.TN.

# ワンステップsiRNAトランスフェクションプレート siScreen

siScreenは、siRNAとトランスフェクション試薬がプレコーティングされたプレートで、目的細胞を播種するだけで簡単にsiRNAのトランスフェクションを行うことができます。トランスフェクション条件が不要であるため、迅速にsiRNAによるノックダウン実験が可能です。トランスフェクションが困難な細胞にも高効率で導入可能です。

Apoptosis、Kinase、Phosphatase研究用の製品、およびお手持ちのsiRNAをプレコーティングするカスタムサービスをお選び頂けます。



## 【特長】

- 細胞を播種するだけでトランスフェクション操作が完了
- 幅広い細胞株で高いトランスフェクション効率(表1)
- プライマリー細胞にも有効
- トランスフェクション効率の再現性が高い
- リポフェクション法と比較して高いノックダウン効率を示す(図1)
- エレクトロポレーション法と比較して細胞生存率が高い(図2)
- ハイスループットスクリーニングに最適
- 希望に応じて様々なプラットフォームが作製可能

## 【各細胞株におけるトランスフェクション後のノックダウン効率】

細胞	由来	ノックダウンレベル	細胞	由来	ノックダウンレベル
HeLa	子宮頸がん	97%	HEK293	胎児腎細胞	97%
T-47D	乳がん	94%	HepG2	肝がん由来細胞	98%
SK-BR-3	乳がん	96%	NT2	テラトカルシノマ	94%
MCF7	乳腺がん	97%	SHSY5Y	神経線維芽細胞	85%
MDA-MB-435S	乳がん	86%	hMSC	間葉系幹細胞	94%
K562	白血病細胞	90%	MEF	マウス線維芽細胞	77%

表1 各細胞株におけるsiRNAによるmRNAノックダウン効率の比較。表に示されているすべての細胞で高いノックダウン効率を示した。

## 【リポフェクション法とのノックダウン効率の比較】

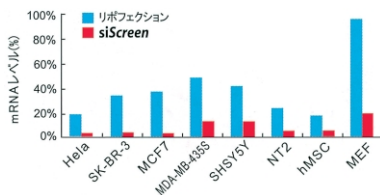


図1 各細胞株におけるsiRNAによるmRNAノックダウン効率のリポフェクション法との比較。Real-TimePCRの結果、siScreenではいずれの細胞でもmRNAが75%以上減少し、リポフェクション法と比較して高いノックダウン効率を示した。特にMEF(マウス線維芽)細胞でのノックダウン効率は顕著で、プライマリー細胞にも有効であることが示された。

## 【siRNA導入後の細胞生存率】

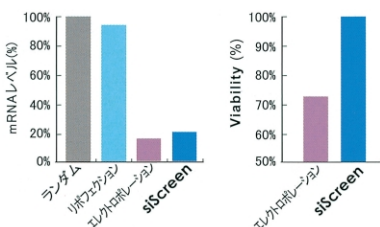
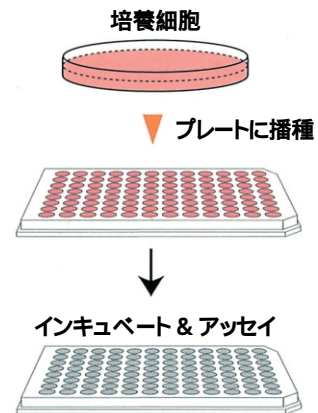


図2 siScreenと各遺伝子導入技術を用いてMEF(マウス線維芽)細胞におけるsiRNA導入後の細胞生存率の比較。エレクトロポレーション法と比較して、ノックダウン効率は同等で、かつ高い細胞生存率を示した。

## 【使用方法】



アプリケーションデータにはない細胞での実験系を構築中の方や、他の導入方法で導入効率が低く、本品を試してみたい方は、siScreen Trialをおすすめ致します。

### siScreen Trial

ポジティブコントロールとして、CDK2(サイクリン依存性キナーゼ2)遺伝子のsiRNAと、ネガティブコントロールとして、ランダム配列siRNAが、それぞれ6ウェルずつ(全12ウェル)プレコートされています。また、RT-PCR用にCDK2(ポジティブコントロール用)および、GAPD(内部コントロール用)のプライマーも添付しております。

### siScreen Custom

Apoptosis、Kinase、Phosphatase遺伝子以外のsiRNAを使用される方は、解析を希望される任意の配列 siRNAをプレコート致します。価格につきましては、弊社営業員もしくは代理店にお問い合わせ下さい。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
637-07593	SI3011	siScreen Trial	24 well plate x 1枚セット	35,000
632-07521	SI1001	siScreen Apoptosis(約320遺伝子のsiRNA)	96 well plate x 4枚セット	400,000
639-07531	SI1002	siScreen Kinase(86遺伝子のsiRNA)	96 well plate x 1枚セット	150,000
636-07541	SI1003	siScreen Phosphatase(約200遺伝子のsiRNA)	96 well plate x 3枚セット	300,000
633-07551	SI2024	siScreen Custom 24(24プレートでのカスタム)	24 well plate x 6枚セット	照会
630-07561	SI2048	siScreen Custom 48(48プレートでのカスタム)	48 well plate x 6枚セット	照会
637-07571	SI2096	siScreen Custom 96(96プレートでのカスタム)	96 well plate x 6枚セット	照会
634-07581	SI2384	siScreen Custom 384(384プレートでのカスタム)	384 well plate x 6枚セット	照会

# Transdirect™ insect cell

島津製作所で開発された無細胞タンパク質合成試薬キットTransdirect™ insect cellは、2つの大きな特長を有しております。その一つめは、昆虫培養細胞由来の全く新しいシステムを実現したことです。既に、ウサギ網状赤血球、小麦胚芽、大腸菌の抽出液を用いた合成用試薬キットが市販されていますが、本製品はバキュロウイルス発現系のタンパク質合成において実績のある、Sf21昆虫培養細胞の抽出液を用いた世界で初めての試薬キットです。二つめに、翻訳を増強する配列としてバキュロウイルスポリヘドリン遺伝子5' UTR配列を組み込んだ高効率発現ベクターを独自開発しました。これらの特長により、これまで唯一の動物系であったウサギ網状赤血球由来の試薬キットよりも約20倍の高いタンパク質合成量を達成しました。本製品1キットで60 µg ~ 100 µgのタンパク質合成が期待できます(反応液1mlあたり30 µg ~ 50 µg)。

また、タグ精製により、非常に簡単に目的タンパク質を取得することも可能で、本製品1キットから20 µg以上の収量が期待できます。この他、異なるタンパク質をコードするmRNAの濃度比を調節することによって多量体タンパク質を任意の組成で合成が可能、市販のイヌ隣膜ミクロソーム膜を添加することで糖鎖修飾されたタンパク質の合成が可能など、様々なアプリケーションへの応用が可能となっております。

## 【特長】

バキュロウイルス発現系のSf21細胞がベース。バキュロウイルスポリヘドリン遺伝子5' UTRを組み込んだ高効率ベクター。これまで唯一の動物系であったウサギ網状赤血球由来の試薬キットよりも、約20倍の高いタンパク質合成量。

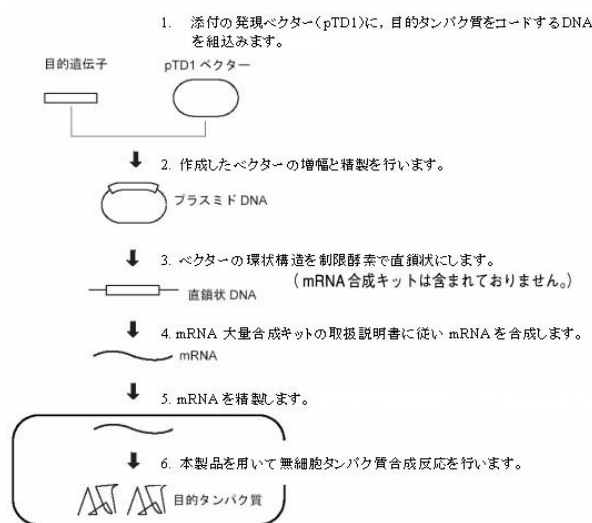
## 【キット内容】

- ▶ Insect Cell Extract .....210 µl × 5本
- ▶ Reaction Buffer .....630 µl × 1本
- ▶ 4mM Methionine .....50 µl × 1本
- ▶ 0.5 µg / µl / pTD1 Vector .....10 µl × 1本
- ▶ 0.5 µg / µl / Control DNA( -gal )...10 µl × 1本

## 【保存方法】

- 80

## 【実験フロー】

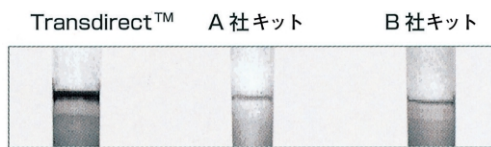


上記の操作は、遺伝子工学の基本操作であり、特殊な操作を必要とする工程は一切ありません。

## 【Transdirect™ insect cell と他社製ウサギ網状赤血球無細胞タンパク質合成キットにおける -ガラクトシダーゼ合成量、活性の比較】

蛍光ラベル法による検出(A)\*と活性測定(B)\*\*を行い、比較した。

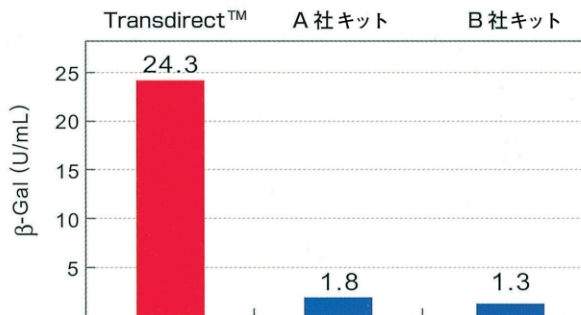
### (A) 蛍光検出



大腸菌 -ガラクトシダーゼを各キットにて合成した。Transdirectではポリヘドリン5' UTRを、ウサギ網状赤血球のキットでは、-グロビン5' UTRをそれぞれ翻訳増強配列として用いた。

\* FluoroTect™ GreenLys in vitro Translation Labeling System (Promega, L5001) にて検出

### (B) 活性測定



\*\* β-Galactosidase Enzyme Assay System with Reporter Lysis Buffer (Promega, E2000) にて測定

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
634-07601	P/N 292-30000-91	Transdirect™ insect cell	40回(50µl/合成系)	27,000

I.K.



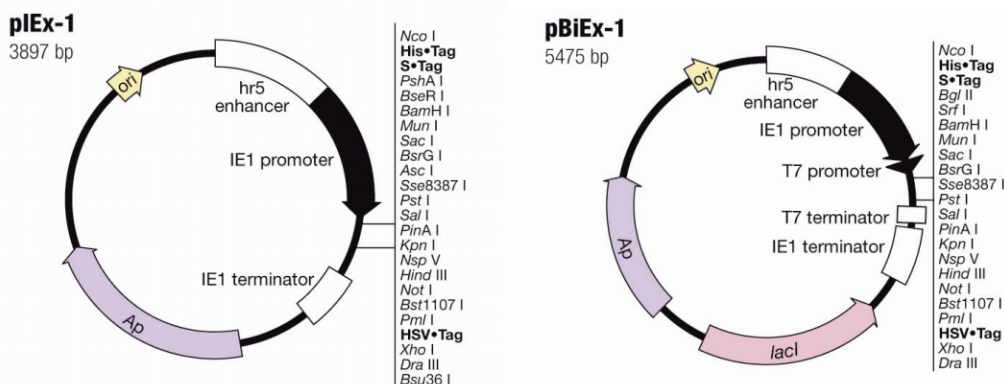
# バキュロウィルスの作製なしに短時間で、昆虫細胞によるタンパク質発現を実現！ Novagen® InsectDirect™ システム

本システムは、一過性発現ベクター(pIEx またはpBiExシリーズ)を直接昆虫細胞(Sf9)に導入する事により、昆虫細胞による高レベルタンパク質発現を短時間(トランスフェクション後48時間)で行うことができます。組換えバキュロウィルスの作製という時間のかかるプロセスが不要で、迅速かつウィルス感染やそれに伴う細胞毒性を抑えます。

高タンパク質収量一過性発現用ベクター

## pIEx™ベクター、pBiEx™ベクター

- pIEx™ベクターは、昆虫細胞でhr5エンハンサーとIE1(Immediate early)プロモーターを持っており、この組み合わせによって昆虫細胞内の転写装置を利用します。pIEx™ベクターを導入したSf9培養液10mlから60-130 µg程度の目的タンパク質を回収できます。
- pBiEx™ベクターは、T7プロモーターとIE1プロモーターの両方をもっています。大腸菌で上手くいかないときにコンストラクトを改めて作らなくても、pIEx™ベクターと同様昆虫細胞で一過性発現できます。



融合タグやプロテアーゼ切断サイト等の違いにより、下記のベクターが選択出来ます。

ベクター	プロモーター	シグナルシーケンス	融合タグ		プロテアーゼ切断サイト	Ek/LICベクター
			N・末端	C・末端		
pIEx-1	hr5/IE1		Hisタグ/Sタグ	HSVタグ	Tb/Ek	
pIEx-2	hr5/IE1		GSTタグ/Hisタグ/Sタグ	HSVタグ	Tb/Ek	
pIEx-3	hr5/IE1		GSTタグ/Hisタグ/Sタグ	HSVタグ	Tb/Ek	
pIEx-4	hr5/IE1			Sタグ/Hisタグ		
pIEx-5	hr5/IE1			Sタグ/Hisタグ		
pIEx-6	hr5/IE1		Hisタグ	Sタグ	Ek	
pIEx-7	hr5/IE1		Hisタグ	Sタグ	Ek	
pBiEx-1	hr5/IE1, T7 lac		Hisタグ/Sタグ	HSVタグ	Tb/Ek	
pBiEx-2	hr5/IE1, T7 lac		GSTタグ/Hisタグ/Sタグ	HSVタグ	Tb/Ek	
pBiEx-3	hr5/IE1, T7 lac			Sタグ/Hisタグ		

タンパク質発現最適化済昆虫細胞

## Sf9 Insect Cells

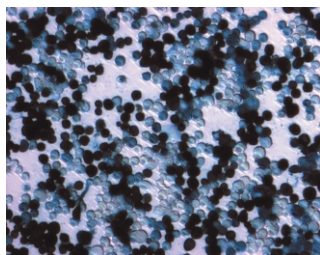
- Novagen社のSf9細胞は、*Spodoptera frugiperda* Sf21細胞由来で、形質転換、ブランクアッセイ、ウィルス生産、タンパク質発現に使用できることをあらかじめ試験しております。
- 無血清培地中でも生育するよう調節されております。



## 高効率トランスフェクション試薬

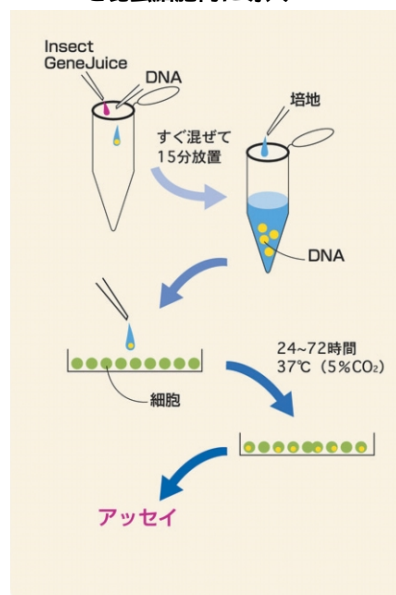
### Insect GeneJuice トランスフェクション試薬

- 本品は、Sf9やSf21などの昆虫細胞に対して最良の効率となるよう最適化されたリポソームベースのトランスフェクション試薬です。
- 細胞毒性が非常に低く、一過性発現にも安定発現にもご使用いただけます。
- バッファー(20mM MES, 150mM NaCl, pH6.2)中に2mg/mlの濃度となっております。1mlは10mlの液体培養で10回分、35mmのプレートで100回分のトランスフェクションに充分な量です。
- 反応時間：48時間(細胞導入前にDNAとInsect GeneJuiceのインキュベート15~20分必要)



Insect GeneJuiceを用いてpIEx-1/galをSf9細胞に導入

### <DNAを昆虫細胞内に導入>



## 超低エンドトキシンレベル プラスミドDNA精製

### UltraMobius™ 200・1000 プラスミドキット

- UltraMobius™ 200 プラスミドキットは、迅速かつ簡便に35mlの大腸菌の培養液から超低エンドトキシンで高純度な200 µg以上のハイコピープラスミドを単離することができます。(UltraMobius™ 1000 プラスミドキットの場合は100mlの大腸菌の培養液から約1mgのプラスミドを単離)
- プロトコールにエンドトキシン量を非常に低いレベルにまで減らすステップが含まれており、精製されたプラスミドはDNAマイクロインジェクションや感受性の高い細胞株へのトランスフェクションに最適です。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
556-82031	70906-3	UltraMobius 1000 プラスミドキット	10回分	40,000
552-82033	70906-4		25回分	84,700
553-82041	70907-3	Introductory UltraMobius 1000 プラスミドキット	2回分	13,800
550-82051	71090-3	UltraMobius 200 プラスミドキット	25回分	43,600
557-82061	71259-3	Insect GeneJuice トランスフェクション試薬	0.3ml	21,400
553-82063	71259-4		1ml	44,600
-	71259-5		10 × 1ml	357,700
-	71104-3	Sf9 Insect Cells	3バイアル	16,100
582-78121	71241-3	pIEx-1 ベクター	20µg	47,600
554-82071	71238-3	pIEx-2 ベクター	20µg	47,600
551-82081	71243-3	pIEx-3 ベクター	20µg	47,600
558-82091	71235-3	pIEx-4 ベクター	20µg	47,600
551-82101	71242-3	pIEx-5 ベクター	20µg	47,600
558-82111	71333-3	pIEx-6 ベクター	20µg	49,000
585-78111	71234-3	pBiEx-1 ベクター	20µg	47,600
555-82121	71233-3	pBiEx-2 ベクター	20µg	47,600
552-82131	71232-3	pBiEx-3 ベクター	20µg	47,600
-	71237-3	pIEx-1 Ek/LIC ベクターキット	20回分	76,600

U.N.

チューブ法で、 $1 \times 10^5$ 以上の形質転換効率を実現



# *S. cerevisiae* Direct Transformation Kit Wakoの応用例

*S. cerevisiae* Direct Transformation Kit Wakoは、チューブおよび96ウェルマイクロプレートを用いて出芽酵母へ簡単に遺伝子導入することができる試薬キットです。高い形質転換効率をお求めの方に、チューブ法で $1 \times 10^5$ cfu/μgまで効率を向上させる手法をご紹介します。

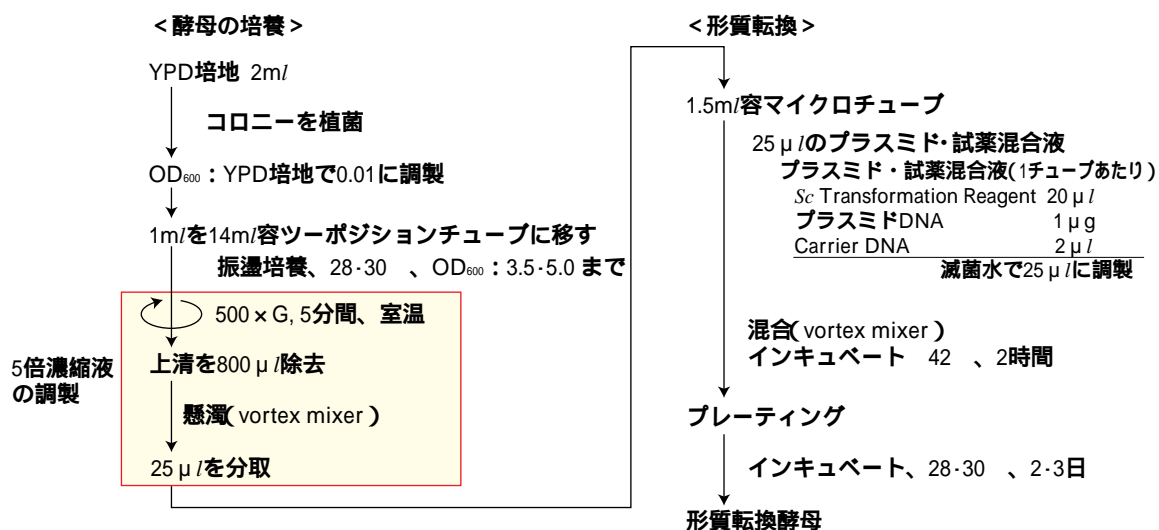
## 【キット内容】

	(20回用)	(100回用)	(500回用)
▶ <i>Sc</i> Transformation Reagent	500 μl	2.5 ml	12.5 ml
▶ Carrier DNA (5 μg/μl)	50 μl	250 μl	1.25 ml



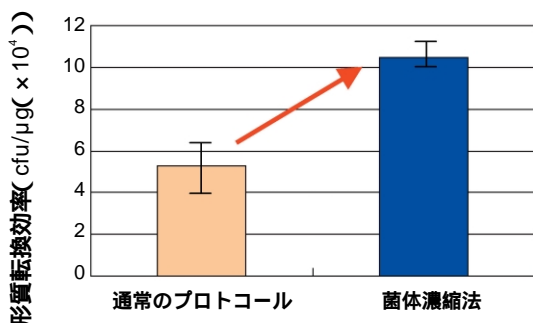
## 【プロトコール】

通常のプロトコールに、遠心分離を用いた菌体の濃縮工程が加わります。



## 【実験結果】

通常のプロトコールおよび菌体濃縮法により、BY4743株にpRS316を導入した。その結果、形質転換効率を約2倍に高めることができた。



	形質転換効率 (cfu/μg)
通常のプロトコール	$5.3 \times 10^4$
菌体濃縮法	$1.1 \times 10^5$

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
296-62701	<i>S. cerevisiae</i> Direct Transformation Kit Wako	遺伝子研究用	20回用	4,800
292-62703			100回用	10,000
290-62704			500回用	40,000

K.O.

# Mouse, Rat Hepatocyte用キット

遺伝子導入困難な細胞に続々とアプリケーションをラインナップするNucleofector®システムにプライマリー肝臓細胞専用キットが発売になりました。ラインナップはマウス、ラットの2製品で、両キットとも約50%以上の導入効率が期待できます。



Nucleofector® II Device



Nucleofector® Kit

## 【特長】

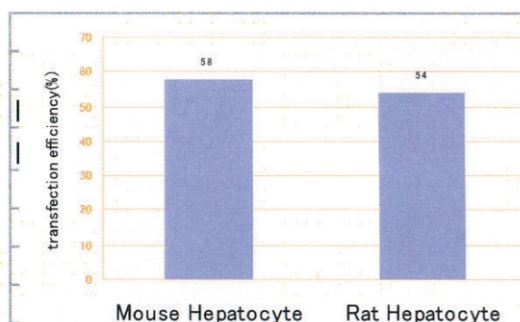
- 約50%の導入効率
- 約80%の細胞生存率
- DNA, siRNAが同じキットで導入可能
- 導入後も細胞機能を維持

## 【キット内容】

- ▶ 専用キュベット.....25個
- ▶ ピペット.....25本
- ▶ Nucleofector® Solution.....2.25ml
- ▶ Supplement.....0.5ml
- ▶ pmaxGFP.....20 µg
- ▶ 専用マニュアル

## 【導入効率】

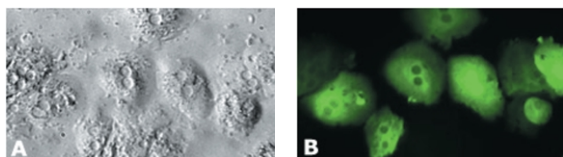
pmaxGFP導入後24時間経過時の導入効率



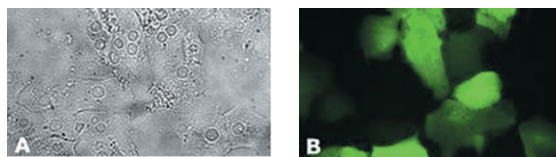
## 【プラスミドDNAの導入例】

pmaxGFP導入後24時間経過時に顕微鏡像(A)、蛍光顕微鏡像(B)で発現の解析を行なった。

マウス肝臓への遺伝子導入

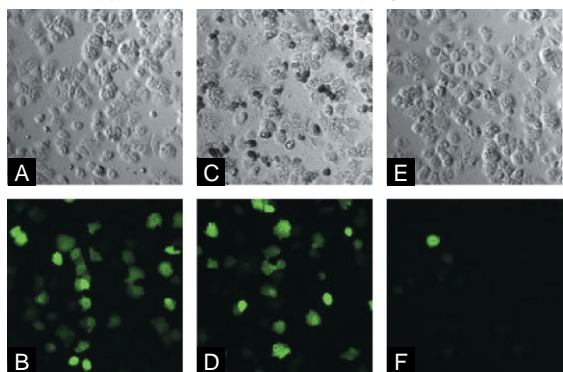


ラット肝臓への遺伝子導入



## 【siRNAの導入例】

マウス肝臓でのジーンサイレンス効果



- A) pmaxGFP 2 µg導入(明視野像)
- B) pmaxGFP 2 µg導入(蛍光像)
- C) pmaxGFP 2 µgとunspecific siRNA 1.5 µg導入(明視野像)
- D) pmaxGFP 2 µgとunspecific siRNA 1.5 µg導入(蛍光像)
- E) pmaxGFP 2 µgとmaxGFP™に対するsiRNA 1.5 µg導入(明視野像)
- F) pmaxGFP 2 µgとmaxGFP™に対するsiRNA 1.5 µg導入(蛍光像)

siRNA Test Kitを使用して遺伝子導入後24時間経過時に測定を行なった。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
559-81541	VPL-1002	Mouse Hepatocyte Nucleofector® Kit	25回用	68,000
556-81551	VPL-1003	Rat Hepatocyte Nucleofector® Kit	25回用	68,000

## 【関連商品】

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
589-81681	AAD-1001	Nucleofector® Device	1台	2,750,000
589-82541	VSC-1001	siRNA Test Kit	1キット	27,000

I.K.

## DsDD cDNA Subtraction Kit *Wako*

DsDD(Duplex-specific Direct Digestion)cDNA Subtraction Kit *Wako*(特許出願中)は、cDNA Library, Total RNAからのTesterおよびDriver cDNAを使用して、サブトラクションを行なえます。TesterおよびDriver cDNAを用いて組織非特異的に発現している遺伝子同士をハイブリッド形成させ、二本鎖特異的DNAヌクレアーゼであるDuplex-specific nucleaseによって、そのハイブリッドcDNAを分解した後、残ったDriver cDNAをExonuclease によって分解除去し、Tester cDNA 中に特異的に発現しているcDNAのみを高い効率で濃縮する方法です。

今回はDNAアレーへの応用例をご紹介します。本キットにて濃縮したTester cDNAをアレーへハイブリダイズすることにより、低バックグラウンドで特異的発現遺伝子の解析を行うことができます。

### 【特長】

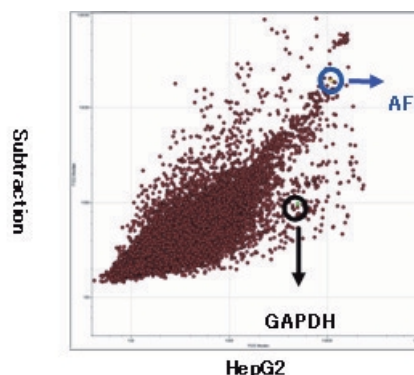
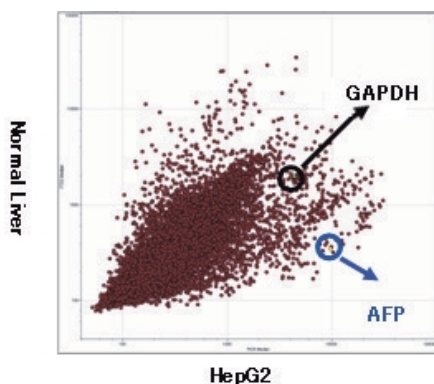
- cDNA Library から作製が可能。
- SMART法との組み合わせ可能。
- TesterおよびDriverの優れた選択性。
- Duplex-specific nucleaseによる除去法を採用。
- 操作が簡便であり、作業工程が少なく2日で終了。



### 【キット内容】

- ▶ Lambda Exonuclease .....5 μl × 1本
- ▶ 10 × Lambda Exonuclease Buffer .....25 μl × 1本
- ▶ 4 × Hybridization Buffer .....25 μl × 1本
- ▶ Duplex-specific nuclease .....5 μl × 1本
- ▶ 2 × Duplex-specific nuclease Buffer .....25 μl × 1本
- ▶ Exonuclease I .....5 μl × 1本
- ▶ 10 × Exonuclease I Buffer .....25 μl × 1本
- ▶ Ethachinmate .....50 μl × 1本
- ▶ Stop Solution .....50 μl × 1本
- ▶ 3mol/l Sodium Acetate, pH 5.2 .....200 μl × 1本

### 【サブトラクション法とDNAチップ法を組み合わせた使用例】



#### < 反応・解析条件 >

マイクロアレイ : AceGene chip 30k human(日立ソフト)  
T7 polymerase reactionによる増幅  
使用したTemplate 5 μg  
標識Cy3 and Cy5( reaction for 40 , 1hr.)

Microarray hybridization time = 18hr.  
Microarray hybridization temperature = 45

Wash protocol

- 2 × SSC/0.5% SDS 5min.
- 2 × SSC 5min.
- 1 × SSC 5min.
- 0.5 × SSC dip

Scanning of Microarray chip( TIFF image DATA )

解析ソフト : GenePix Pro 6.0

ハウスキーピング遺伝子(GAPDH)は十分サブトラクトされており、特異的な発現遺伝子(AFP)蛍光シグナルが更に増強(濃縮)されている。このことは遺伝子クローニング実験において非常に有利であり、特徴性の高い遺伝子を抽出可能であることが考えられる。ただし、一部のリボソーム系遺伝子も同時に濃縮されている。リボソーム系遺伝子を除くためには、いくつかのがん細胞を混合してドライバーを調製するとがん組織・細胞特異的遺伝子をより明確に探索できると考えられる。

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
294-62001	DsDD cDNA Subtraction Kit <i>Wako</i>	5回用	98,000

I.K.



# TA-Blunt Ligation Kit

TA-Blunt Ligation Kit は短時間(30分)で高効率なTAクローニング、平滑末端DNAのライゲーションを行うためのキットです。

本キットでは、TAクローニングや平滑末端ライゲーションにおいてこれまでのライゲーションキットを大幅に凌ぐ高効率ライゲーションが可能となります。

## 【キット内容】

- (50回分) (5回分)
- ▶ 5× Ligation Mix ..... 100 μl × 2本 20 μl × 1本
  - ▶ 10× Enhancer solution ..... 50 μl × 2本 10 μl × 1本

## 【実験例：他社ライゲーションキットとの比較】

### TAクローニング

T-ベクターへのPCR産物のライゲーション反応において、白コロニー率(ライゲーション効率)およびコロニー数(ライゲーション効率、形質転換効率)について他社ライゲーションキットとの比較を行った。

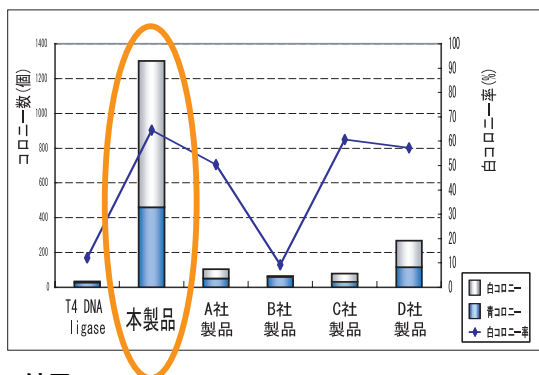
#### 方法

ベクターDNA：pGEM®-T Easy( Promega )

インサートDNA：PCR産物(500bp)

反応条件：16、30分(TA-Blunt Ligation Kit)

他の製品は製品マニュアルに従って、反応を行った。



#### 結果

TA-Blunt Ligation Kit使用により、他社製品と比較して、優位にコロニー数、白コロニー率が上昇した。

## 【特長】

TAクローニング、平滑末端ライゲーション専用のライゲーションキットである。

16 または室温(25) 30分で高効率なライゲーションができる。

5× Ligation Mix, 10× Enhancer solutionは、溶解する必要がなく、迅速に実験が開始できる。

反応終了液は、そのまま形質転換に使用できる。

## 【保存方法】

- 20

### 平滑末端DNAのライゲーション反応

平滑末端DNAのライゲーション反応において白コロニー率(ライゲーション効率)及びコロニー数(ライゲーション効率、形質転換効率)について、他社ライゲーションキットとの比較を行った。

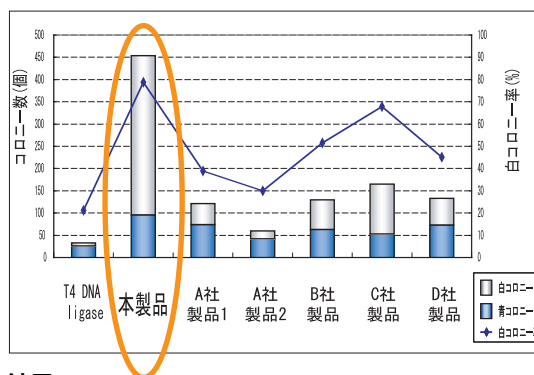
#### 方法

ベクターDNA：pBluescript® SK(+) EcoRV(Stratagene)

インサートDNA：EcoRV断片(平滑末端, 1Kbp)

反応条件：16、30分(TA-Blunt Ligation Kit)

他の製品は製品マニュアルに従って、反応を行った。



#### 結果

TA-Blunt Ligation Kit使用により、他社製品と比較して、優位にコロニー数、白コロニー率が上昇した。

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
315-06541	TA-Blunt Ligation Kit	5回分	3,200
311-06543		50回分	22,000

NEW

## 【関連製品】

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
312-06291	Blunting-Convenience Kit	25回分	20,000
316-06233	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> DH5	100μl × 20本	36,000
313-06243	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> JM109	100μl × 20本	36,000
317-06523	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> XL1-Blue	100μl × 10本	24,000
314-06533	ECOS™ Competent <i>E. coli</i> BL21(DE3)	100μl × 10本	27,000
314-06251	Bac'n' Roll Beads	100回分	4,400
318-02871	Gene Taq	250 units	22,500
314-80251	HOTGoldstar™ DNA Polymerase	500 units	45,000

NEW

NEW

TA-Blunt Ligation Kitは、日本原子力研究開発機構が所有する特許(出願中)のライセンスを受けて製造販売しております。

## NEW p2FP-RNAi vector

本ベクターは、EGFPよりも高いパフォーマンスを示す緑色蛍光タンパク質TurboGFPをレポーターに、赤色蛍光タンパク質JRedを陽性コントロールに使用した2色同時発現のベクターです。目的の配列をMCSに組み込んだ本ベクターを哺乳動物細胞に導入後、挿入配列を標的に設計した様々なsiRNAをトランスフェクションします。それによって、挿入配列のどの領域に対するsiRNAが最も発現抑制効果があるかを、蛍光タンパク質で検出できます。

### 【特長】

緑色蛍光タンパク質(TurboGFP)を用いてsiRNA抑制効果を検出可能。

赤色蛍光タンパク質(JRed)を内因性ポジティブコントロールとして検出可能。

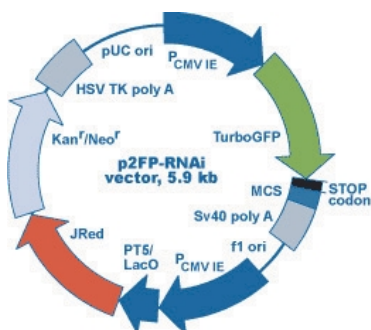
CMV IEプロモーターを用いているため、低発現遺伝子に対するsiRNAの抑制効果も一定のコピー数で検証可能。

### 【用途】

siRNAによる遺伝子発現抑制効果の判別テスト  
内因性RNAiの機能解析

遺伝子発現抑制試験のコントロール

### 【ベクター構造】



プロモーター：CMV(Cytomegalovirus) E

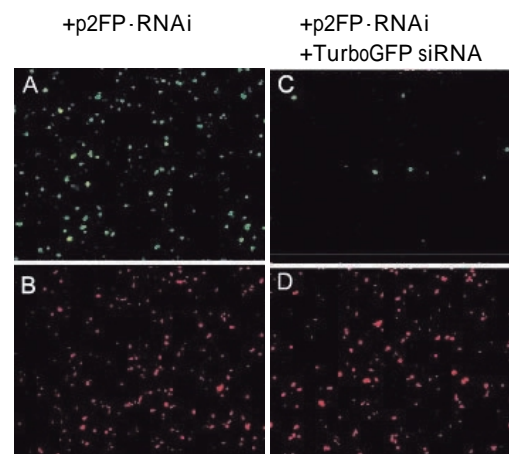
レポーター：TurboGFP, JRed

選抜マーカー：Kanamycin(大腸菌選抜用)  
Neomycin(G418)(哺乳動物細胞選抜用)

複製起点：pUC ori(大腸菌宿主用)  
SV40 ori(哺乳動物細胞宿主用)

コドンユースージ：ヒト型

### 【TurboGFP遺伝子のsiRNAによる発現抑制実験】



- A) p2FP-RNAiベクターをトランスフェクションした哺乳動物細胞でTurboGFPを検出。  
B) Aの内因性ポジティブコントロールとしてJRedを検出。  
C) Aで作製した細胞にTurboGFPのsiRNAをトランスフェクションさせ、TurboGFPを検出。  
TurboGFPの遺伝子発現を抑制していることを確認。  
D) Cの内因性ポジティブコントロールとしてJRedを検出。

### 【使用方法】

- 1) ノックダウンしたい遺伝子や非コード領域(5'・3'・URLやnon-coding RNAなど)のDNA配列を、MCSへ挿入。
- 2) 1)で作製したプラスミドを目的の哺乳動物細胞へ導入。
- 3) 形質転換体選抜。
- 4) 1)で挿入した遺伝子または非コード領域をノックダウンするために設計したsiRNAを導入。
- 5) TurboGFPの発現を検出。

コードNo.	メーカーコード	品名	レポーター	蛍光色	容量	希望納入価格(円)
551-81481	FP981	p2FP-RNAi vector	TurboGFP, JRed	Green, Red	20µg	84,000

I.F.

## お知らせ

学会名	会期	会場
* 日本薬理学会	3/8 ~ 10	パシフィコ横浜
* 日本農芸化学会	3/25 ~ 28	京都女子大学
* 日本薬学会	3/28 ~ 30	仙台国際センター

\* 印は当社展示予定の学会です。

# HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit-NH<sub>2</sub> HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit-NH<sub>2</sub>

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

蛍光ラベリングキットは活性化試薬とフィルトレーションチューブにより、抗体等のタンパク質を標識する為のキットです。ご好評頂いております Fluorescein Labeling Kitに引き続き、HiLyte Fluor™のLabeling Kitをラインアップ致しました。HiLyte Fluor™ は米国の AnaSpec社が開発した蛍光色素でHiLyte Fluor™ 555はCy3と、HiLyte Fluor™ 647はCy5と類似した波長特性をもっています。



## 【特長】

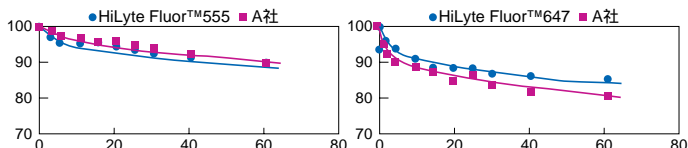
- わずか2時間で標識可能
- 必要タンパク質量は50 ~ 200 μg
- 高い回収率
- 附属の保存溶液で標識体を長期保存

## 【キット内容】

- ▶ NH<sub>2</sub>-Reactive HiLyte Fluor™ dye \*.....3本
- ▶ WS Buffer .....4ml × 1本
- ▶ Reaction Buffer .....500 μl × 1本
- ▶ Filtration Tube .....3本
- \* HiLyte Fluor™ 555または647

蛍光物質	色	Ex (nm)	Em (nm)
Fluorescein		500	525
HiLyte Fluor™ 555		555	570
HiLyte Fluor™ 647		655	670

HiLyte Fluor™ とA社を蛍光顕微鏡でG励起光を照射した場合の蛍光強度の変化



コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
347-90911	LK01	Fluorescein Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	21,000
348-91041	LK14	HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	21,000
345-91051	LK15	HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit-NH <sub>2</sub>	3samples	21,000

HiLyte Fluor™は、AnaSpec社の商標です。  
Cy3、Cy5は、Amershamの登録商標です。

G.T.

## 高温反応条件下で失活しない耐熱性DNAリガーゼ



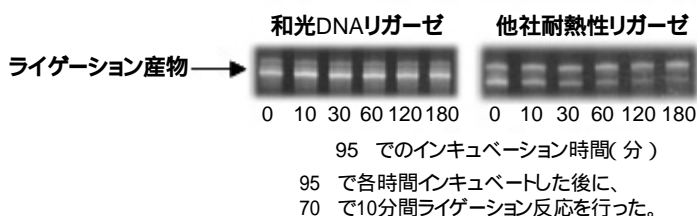
# DNA Ligase

本品は、超耐熱性古細菌由来の組換え体耐熱性DNAリガーゼです。耐熱菌由来のため高温条件下で反応可能であり、DNAの5'-P末端と3'-OH末端をライゲーションさせます。従来の耐熱酵素よりライゲーション効率が高らかに高く、遺伝子変異研究等に有用です。

## 【特長】

- Aeropyrum pernix 由来。
- 他社の耐熱性DNAリガーゼと比較し、はるかに高い耐熱性。
- 100 °Cで1時間、95 °Cでは3時間以上にわたり活性持続。
- 従来品より、感度上昇・反応時間の短縮が可能。

## 【他社耐熱性リガーゼとのライゲーション産物の違い】



## 【活性定義】

pH7.5、70 °C、10分間にAnnealed DNAを用いて80%以上ライゲーションさせる酵素量を1unitとし、電気泳動法にて活性を測定する。

## 【製品内容】

- ▶ DNA Ligase, thermostable, recombinant, solution .....25 μl
- ▶ 10 × Reaction Buffer .....50 μl

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
294-64201	DNA Ligase, thermostable, recombinant, solution	25μl	30,000

I.K.

# HiLyte Fluor™ 標識二次抗体



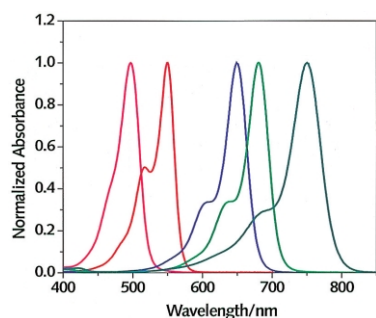
HiLyte Fluor™ シリーズは、優れた蛍光標識試薬であり、他の蛍光標識試薬と比較しても様々な点で非常に優れています。

## 【特長】

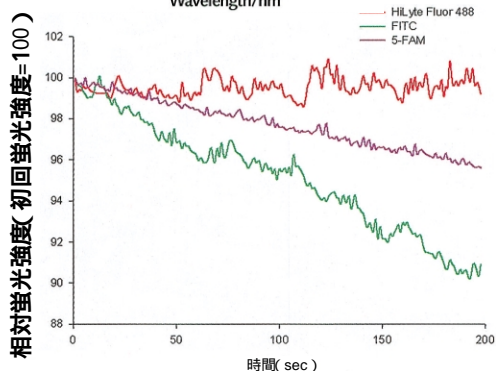
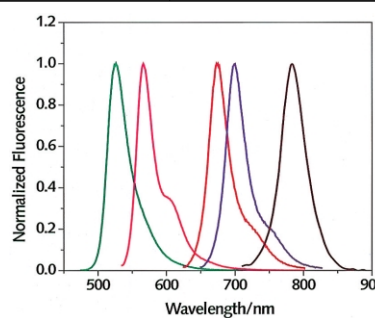
- 強い蛍光強度。
- 高い光安定性。
- pHに強い。
- 高い水溶性。

## 各色素の励起・蛍光波長

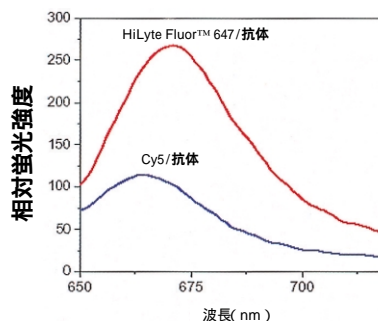
	最大励起波長 (nm)	最大蛍光波長 (nm)
HiLyte Fluor™ 488	501	527
HiLyte Fluor™ 555	550	566
HiLyte Fluor™ 647	650	675
HiLyte Fluor™ 680	678	699
HiLyte Fluor™ 750	753	778



各色素の励起スペクトル(左図)と  
蛍光スペクトル(右図)  
双方とも左から順にHiLyte  
Fluor™ 488、555、647、680、  
750。



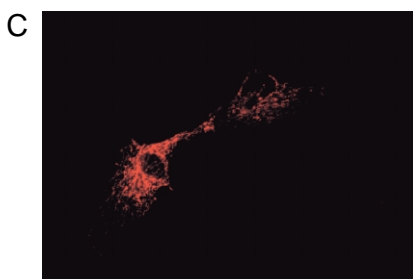
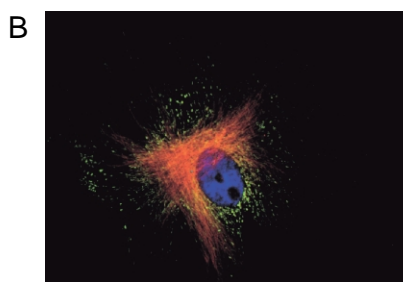
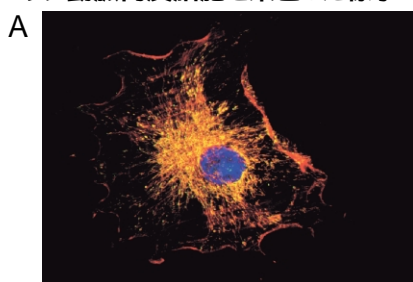
PBS中での光安定性の比較  
HiLyte Fluor™ 647 とFITC、5-FAM  
それぞれの蛍光強度の経時変化



HiLyte Fluor™ 647とCy5の蛍光強度比較  
それぞれを二次抗体にラベルし、蛍光強度  
をプロット。

さらに、これらの色素を二次抗体に標識した製品群もそろえています。

## ウシ動脈内皮細胞を染色した様子



- (A) アクチンをビオチン標識ファロイジンとHiLyte Fluor™ 555標識ストレプトアビジン、ミトコンドリアを抗Oxphos複合体 とHiLyte Fluor™ 488標識2次抗体、核はHoechst 33342(584・76501)を使ってそれぞれ視覚化した。
- (B) チューブリンをビオチン標識抗体とHiLyte Fluor™ 647標識ストレプトアビジン、ミトコンドリアを抗Oxphos複合体 とHiLyte Fluor™ 488標識抗体、核はDAPIを使ってそれぞれ視覚化した。
- (C) 抗Oxphos複合体 とHiLyte Fluor™ 555標識2次抗体を用いてミトコンドリアを視覚化した。



## 【HiLyte Fluor™色素】

コードNo.	メーカーコード	品名	タイプ	容量	希望納入価格(円)
-	81160	HiLyte Fluor™ 488	acid	10mg	48,800
552-76021	81161		acid, SE( Succinimidyl Ester )	5mg	65,800
-	81162		amine	1mg	48,800
-	81164		C <sub>2</sub> maleimide	1mg	48,800
-	81163		hydrazide	1mg	48,800
-	81250	HiLyte Fluor™ 555	acid	10mg	73,800
559-76031	81251		acid, SE( Succinimidyl Ester )	5mg	65,800
-	81252		amine	1mg	36,300
-	81254		C <sub>2</sub> maleimide	1mg	36,300
-	81253		hydrazide	1mg	36,300
-	81255	HiLyte Fluor™ 647	acid	5mg	98,800
556-76041	81256		acid, SE( Succinimidyl Ester )	1mg	33,000
-	81257		amine	1mg	36,300
-	81259		C <sub>2</sub> maleimide	1mg	36,300
-	81258		hydrazide	1mg	36,300
-	81260	HiLyte Fluor™ 680	acid	5mg	98,800
553-76051	81261		acid, SE( Succinimidyl Ester )	1mg	43,900
-	81262		amine	1mg	48,800
-	81264		C <sub>2</sub> maleimide	1mg	48,800
-	81263		hydrazide	1mg	48,800
-	81265	HiLyte Fluor™ 750	acid	5mg	98,800
550-76061	81266		acid, SE( Succinimidyl Ester )	1mg	43,900
-	81267		amine	1mg	48,800
-	81269		C <sub>2</sub> maleimide	1mg	48,800
-	81268		hydrazide	1mg	48,800

## 【HiLyte Fluor™色素標識抗体】

コードNo.	メーカーコード	品名	標識	容量	希望納入価格(円)
558-80911	28175-H488	Goat anti - mouse IgG( H+L ) (適用 : WB, FC, ELISA, IHC)	HiLyte Fluor™ 488	500µg	16,600
555-80921	28175-H555		HiLyte Fluor™ 555	500µg	16,600
552-80931	28175-H647		HiLyte Fluor™ 647	500µg	16,600
559-80941	28172-H488	Goat anti - rabbit IgG( H+L ) (適用 : WB, FC, ELISA, IHC)	HiLyte Fluor™ 488	500µg	16,600
556-80951	28172-H555		HiLyte Fluor™ 555	500µg	16,600
553-80961	28172-H647		HiLyte Fluor™ 647	500µg	16,600
551-81241	28168-H488	Rabbit anti - goat IgG( H+L ) (適用 : WB, FC, ELISA, IHC)	HiLyte Fluor™ 488	500µg	16,600
558-81251	28168-H555		HiLyte Fluor™ 555	500µg	16,600
555-81261	28168-H647		HiLyte Fluor™ 647	500µg	16,600
552-81271	28164-H488	Rabbit anti - mouse IgG( H+L ) (適用 : WB, FC, ELISA, IHC)	HiLyte Fluor™ 488	500µg	16,600
559-81281	28164-H555		HiLyte Fluor™ 555	500µg	16,600
556-81291	28164-H647		HiLyte Fluor™ 647	500µg	16,600
550-80971	60665	Streptavidin	HiLyte Fluor™ 488	1mg	28,600
557-80981	60666		HiLyte Fluor™ 555	1mg	28,600
554-80991	60667		HiLyte Fluor™ 647	1mg	28,600

製品説明書はホームページから入手できます。( <http://www.anaspec.com/> )

U.TN.

### エンドトキシン試験法セミナー2006～エンドトキシン試験の動向と実際～

#### 大阪会場(定員200名)

日時 : 2006年3月8日(水) 13 : 10 ~ 17 : 15  
場所 : 千里ライフサイエンスセンターホール

#### 東京会場(定員200名)

日時 : 2006年3月10日(金) 13 : 10 ~ 17 : 15  
場所 : 全電通労働会館

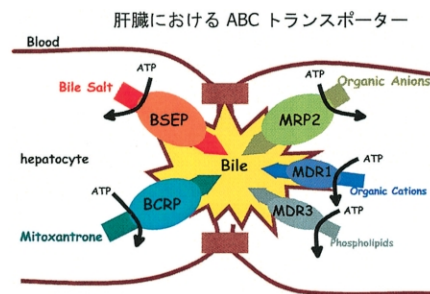
[http://wako-chem.co.jp/me/News/endotoxine\\_seminar2006.pdf](http://wako-chem.co.jp/me/News/endotoxine_seminar2006.pdf)

上記URLより、申し込み用紙、詳細プログラム等が入手可能です。  
申し込み順に受付いたします。詳しくは、弊社もしくは弊社代理店までお問合せください。

## トランスポーター解析用試薬



ジェノメンブレン社では、薬物トランスポーター解析に重要な役割を果たす ABC Transporter Membranes および Vesicles をラインアップしています。ヒトではこれまでに48種類のABC Transporter 遺伝子が同定されています。そのうち10種類程度について、細胞内から細胞外へと薬剤を排出する事が報告されています。そのため、薬剤の体内動態、薬効、毒性を考察する上で ABC Transporter と薬剤との相互作用は、ますます重要な要素として考えられるようになっていきます。



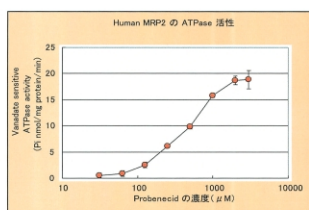
## ABC Transporter Membranes

ABC Transporter Membranes は、ABC Transporter を発現させた昆虫由来 Sf9 細胞の細胞膜画分です。ABC Transporter に由来する ATPase 活性を測定することにより、薬剤とトランスポーターとの相互作用を解析することが可能です。

## ABC Transporter Vesicles

ABC Transporter Vesicles は、ABC Transporter を発現させた昆虫由来 Sf9 細胞の細胞膜画分を、膜小胞輸送実験用に調製した製品です。ABC Transporter Vesicles は、反転膜小胞 (inside-out vesicle) の構造をとっています。薬剤排出型 ABC Transporter は基質を細胞内から細胞外へと輸送する事から、反転膜小胞では基質を小胞内へと輸送します。小胞内に輸送された化合物を定量する事で、輸送活性を直接評価する事ができます。

## 【使用例】



Probenecid による Human MRP2 Membranes の ATPase 活性測定結果

MRP2 と相互作用する Probenecid を試験化合物として Human MRP2 Membranes の ATPase 活性を測定した結果、濃度依存的に ATPase 活性の上昇が見られた。ATPase 活性は、ATP の加水分解によって生じた無機りん酸量を発色定量した。

ABC Transporter Membranes および ABC Transporter Vesicles を用いた ATPase アッセイおよび膜小胞輸送アッセイのプロトコール詳細は下記 URL から入手できます。( <http://www.genomembrane.com/> )

平成18年3月31日までキャンペーン価格にてご提供致します。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量*	希望納入価格(円)	キャンペーン価格(円)
633-07671	GM0001	Human MRP2 Membranes	2.5mg	100,000	90,000
630-07681	GM0002	Rat Mrp2 Membranes	2.5mg	100,000	90,000
637-07691	GM0004	Mouse Mdr1a Membranes	2.5mg	100,000	90,000
630-07701	GM0010	Human Mrp1 Membranes	2.5mg	100,000	90,000
637-07711	GM0011	Rat Mrp1 Membranes	2.5mg	100,000	90,000
634-07721	GM0014	Dog Mrp2 Membranes	2.5mg	100,000	90,000
631-07731	GM0015	Human MDR1 Membranes	2.5mg	100,000	90,000
638-07741	GM0003	Control Membranes	2.5mg	80,000	72,000
635-07751	GM0001V	Human MRP2 Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
632-07761	GM0002V	Rat Mrp2 Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
639-07771	GM0005V	Human BSEP Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
636-07781	GM0006V	Rat Bsep Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
633-07791	GM0007V	Rat Bcrp Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
636-07801	GM0010V	Human MRP1 Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
633-07811	GM0011V	Rat Mrp1 Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
630-07821	GM0012V	Human MRP4 Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
634-07841	GM0013V	Human MRP8 vesicles	2.5mg	105,000	94,500
613-07851	GM0014V	Dog Mrp2 Vesicles	2.5mg	105,000	94,500
637-07831	GM0003V	Control Vesicles	2.5mg	85,000	76,500

\*500 μl 溶液(タンパク質濃度 5mg/ml) G.T.

# バイオマッシャー®



バイオマッシャー®は、使い捨てタイプの遠心ホモジナイザーです。フィルターチューブと破碎棒から構成されています。検体をフィルターチューブにいれ、破碎棒を挿入し、遠心分離により検体を破碎します。使い捨てのため、コンタミが防げ、短時間で大量に検体を処理できます。

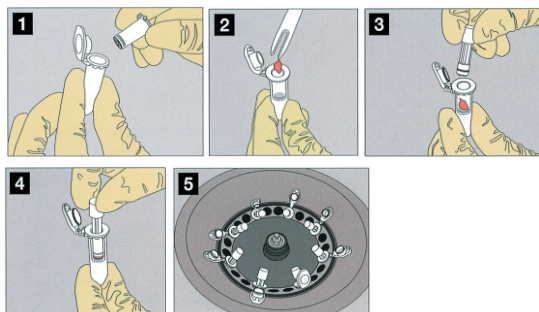


## 【製品内容】

- ▶ フィルターチューブ
- ▶ 回収用チューブ (1.5m/用、2.0m/用)
- ▶ 破碎棒(リング付き、リングなし)

○リング付きは破碎棒にゴム製の○リングが付いており、検体の逆流を防ぎます。

## 【操作方法】



1. 回収用チューブにフィルターチューブをセットします。
  2. フィルターチューブに試料を挿入します。(動物臓器で200mg程度。)
  3. 破碎棒を上から挿入します。
  4. 遠心分離機にセットし15,000 × g\*、10~30秒間遠心分離します。
  5. 破碎された試料が回収チューブに回収されます。
- \* 15,000g以上になると破損する場合があります。

## 【バイオマッシャー使用用途】

動物の各組織からのRNA、DNA、タンパク質の抽出  
 植物からのRNA、DNA抽出  
 昆虫からのRNA、DNA抽出  
 ポリアクリルアミドゲルからのタンパク質精製  
 アガロースからのDNA精製

## 【実績】

ウシの脳、腎臓、肝臓、心臓、血管からのRNA、DNA抽出  
 マウスの心臓、腎臓、肝臓からのRNA抽出  
 植物の葉からのRNA、DNA抽出  
 コメからのRNA、DNA、タンパク質の抽出  
 カイコガ頭部、絹糸腺からのDNA抽出

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
307-30751	NIP-50-1.5	バイオマッシャー® 1.5ml マイクロチューブ	50セット	7,000
304-30761	NIP-50-1.5-O	バイオマッシャー® 1.5ml マイクロチューブ(リング付)	50セット	8,000
303-30753	NIP-200-1.5	バイオマッシャー® 1.5ml マイクロチューブ	200セット(50×4)	24,000
300-30763	NIP-200-1.5-O	バイオマッシャー® 1.5ml マイクロチューブ(リング付)	200セット(50×4)	26,000
301-30771	NIP-50-2.0	バイオマッシャー® 2.0ml マイクロチューブ	50セット	7,000
308-30781	NIP-50-2.0-O	バイオマッシャー® 2.0ml マイクロチューブ(リング付)	50セット	8,000
307-30773	NIP-200-2.0	バイオマッシャー® 2.0ml マイクロチューブ	200セット(50×4)	24,000
304-30783	NIP-200-2.0-O	バイオマッシャー® 2.0ml マイクロチューブ(リング付)	200セット(50×4)	26,000

サンプルご要望の方は右記までお申し込みください

サンプル包装：以下4製品のセットになっています。

- ▶ バイオマッシャー® 1.5ml マイクロチューブ.....1セット
- ▶ バイオマッシャー® 1.5ml マイクロチューブ(リング付き)...1セット
- ▶ バイオマッシャー® 2.0ml マイクロチューブ.....1セット
- ▶ バイオマッシャー® 2.0ml マイクロチューブ(リング付き)...1セット

### 【サンプル請求先】

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

G.T.

摂食亢進作用を持つ ghrelin の前駆体から摂食抑制作用を持つペプチド発見される



## Obestatin

Ghrelinは、国立循環器病センターを中心とするチームによりGrowth Hormone Secretagogue受容体に特異的なリガンドとして、ラットの胃から精製、同定されました<sup>1)</sup>。その後、ghrelinは成長ホルモン放出作用だけでなく、強い食欲亢進作用を持つことがわかってきました<sup>2)</sup>。一方、スタンフォード大学のチームはghrelinの前駆体preproghrelinのバイオインフォマティクサーチから、哺乳類 preproghrelinの中でよく保存されている23残基からなるペプチドに注目しました。彼らは合成した23残基ペプチドの抗体を作製し、ラットの組織抽出物のラジオイムノアッセイを行った結果、胃に免疫活性が存在することを確認しました。その活性物質を精製し、アミノ酸配列分析と質量分析による解析を行った結果、内因性のペプチドは彼らが注目していた23残基のペプチドアミドと同一であることがわかりました。

このペプチドをマウスに適用したところ対照群に比べ摂食量を抑制しました(1 μmol/kgを腹腔内適用, 8 nmol/kgを脳室内適用)。また、ラットに8日間適用を続けたところ対照群に比べ体重増加が抑制されました。彼らはこの摂食抑制作用に注目し、“肥満を制限する”という意味をラテン語に求めobedere(むさぼり食うの意)と statur(抑制の意)を重ね合わせ、このペプチドを obestatin と名付けました<sup>3)</sup>。

Obestatinは、胃を空にする作用や空腸の収縮力抑制作用も持っています。また <sup>125</sup>I-obestatin はラット空腸の細胞膜標本に強い親和性を示しました(K<sub>d</sub>=4 nM)。この点に関して更に解析を進めた結果、obestatinはCHO細胞に発現させたオーファンGタンパク共役受容体の内GPR39に強い親和性を示し(K<sub>d</sub>=1 nM)。このGPR39受容体を介しcAMP増加作用を示すことが明らかになりました。GPR39はghrelin / motilin / neurotensin / neuromedin Uには親和性を示さず、空腸 / 十二指腸 / 胃 / 下垂体 / 回腸 / 肝臓 / 視床下部 に遺伝子が発現していました。

### Preproghrelin (Human 117AA)

MPSPGTVCSL LLLGMLWLDL AMAGSSFLSP EHQRVQQRKE SKKPPAKLQP RALAGWLRPE  
DGGQAEAGED ELEVRFNAPF DVGIKLSGVQ YQQHSQALGK FLQDILWEEA KEAPADK  
Obestatin (precursor)



Obestatin (Human)



Obestatin (Rat, Mouse)

このように、摂食抑制作用を持つobestatinが、摂食亢進作用を持つghrelinの前駆体から見つかったことは驚くべき事であり、摂食を調節する上でどのような意味を持つのかに興味を持たれます。今までghrelin遺伝子を欠損させたマウスでは成長や食欲の障害が起こらない事が知られていました。その原因は不明でしたが、ghrelinだけでなくobestatinも欠損していた事が理由の一つに挙げられるのかもしれませんが、いずれにしても、obestatinを含めたエネルギー・ホメオスタシスと体重調節の研究における今後の展開が期待されています。

#### 【参考文献】

1) *Nature*, 402, 656 (1999) 2) *Physiol. Rev.*, 85, 495 (2005) 3) *Science*, 310, 996 (2005)

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)
330-44291	4429-s	Obestatin(Human)	0.1mg vial	8,000
333-44301	4430-s	Obestatin(Rat, Mouse)	0.1mg vial	8,000

#### 【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)
337-43721	4372-s	Ghrelin(Human)	0.1mg vial	20,000
334-43731	4373-s	Ghrelin(Rat)	0.1mg vial	20,000

G.T.

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、「衣料品」、「食品」、「生活用品」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) 6203-1788(学術部)  
支店 ☎103-0023 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号 ☎(03) 3270-8243(学術部)  
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)  
筑波営業所 ☎029-858-2278(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

ご意見・お問合せ、本誌のDM新規登録・変更等については、  
E-mail : biowin@wako-chem.co.jp まで

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