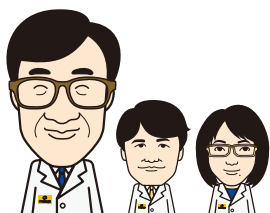


瓦版は、クラブメールマガジンの  
抜粋版となります。  
メールマガジンをご希望の方は、  
クラブにご登録ください。

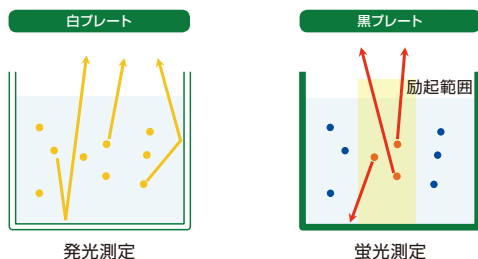


## テクニカルスタッフの ちょっと一言

創薬中の High Throughput Screening (HTS) というプロセスにおいては、大量のサンプルの生理活性を調べるためにマイクロプレートを使ったアッセイが必須となってきました。さらに、さまざまなプレートが開発、発売されています。またプレートの高密度化が 384 ウェル、1,536 ウェルへと進み、そもそもサンプルが混ざるのかどうか、それどころかどうやって分注するのか、といった問題も生まれてきますが、現在では専用の装置も開発、販売されています。

マイクロプレートには、透明、白、黒と色の工夫、また滅菌、細胞の接着しやすい加工、最近では細胞を接着しにくくすることにより細胞にスフェロイドを形成させるものなどが開発されています。プロメガでは、ルシフェラーゼを応用した発光法を主体として、蛍光、吸光度を用いた試薬をご提供していますが、試薬を使用する上でときどきお問合せいただくのが、**プレートの色の選択**です。発光、蛍光それぞれのメカニズムを考えると悩む必要がありません。

### プレート色の選択



基本的に発光は白、蛍光は黒プレートを用います。発光は酵素反応あるいは化学発光反応を利用しており、すべてのエネルギー源はサンプル中にあります。またサンプル中には発光する物質、バックグラウンドを上げるものは含まれていないため極力すべての光を検出器に回収するために、光を反射する白プレートを用います。本来は鏡のプレートがあればよいのかもしれませんが、一方、蛍光は外部から与える励起光の量をコントロールすることにより、蛍光量をコントロールすることができるので、光量に困ることはあまりありません。したがってバックグラウンドの上がない黒プレートを用いるわけです。よって、一般的には発光法は白、蛍光法では黒を第一選択とします。しかしながら、発光法において十分な発光量がある

## これから創薬を始める方へ [Vol. 2] ～セルベースアッセイを始めるまえに～

場合は黒プレートの方がよい結果が得られることがありますし、蛍光法においても、蛍光量が得られないときなどは、白プレートを用いた方がよいこともあります。ただしこの場合は S/B ではなくて、前回 (Vol. 1) 記述しました 'Z' で評価することが重要になります。

プレートの色が決まり、プレートの表面処理が決まると、プレートが決まります。

次に 96 ウェル以上の密度のプレートを用いたセルベースアッセイになると、ぶつかる問題として、**エッジエフェクト**というものがあります。外側のウェルのシグナルが低いといった類の問題です。これを非常に気にされる方は、外側のウェルをすべて使わないということもあります。となるとせっかくの 96 ウェルプレートも、60 ウェルプレートになってしまいます。さて、これを何とかできないかと、プレートがインキュベーター中の金属の棚に直接触れないようにするという話も聞いたことがあります。

### エッジエフェクト:

⊗ 外側のウェルシグナルが低い



そんな中、いまから 12 年も前ですが *A Simple Technique for Reducing Edge Effect in Cell-Based Assays* というタイトルで、ユニークな報告がありました。エッジエフェクトを除く方法は至ってシンプル。細胞を播種したあと、CO<sub>2</sub> インキュベーターに入れるまえに室温に 1 時間放置するだけです。さらにこのレポートでは、このエッジのウェル内での細胞の生え方まで調べていて、ウェル内にもエッジエフェクトは起きていることを報告しています。

これはあくまでも報告ですが、もしもプロメガのセルベースアッセイをご利用いただいている (いただいでなくても)、エッジエフェクトが気になる方がいらっしゃいましたら、この報告 (*J. Biomol. Screen.* 2003; 8: 566-570) をご一読いただき、お試ください。



## 創薬に向けたプロメガの取り組み

日本の創薬を加速させるために重要視されているアカデミア創薬への取り組みはこの数年で精力的に実行に移され、化合物ライブラリーやスクリーニング拠点も本格的に動き出しています。創薬プロセスの中でも薬物候補のスクリーニングは重要であり、アカデミア創薬の成功の鍵はいかに効率よくスクリーニングし、優れたリードを見つけるかにかかっています。

プロメガのスクリーニング用のアッセイ試薬はこれまで世界中の製薬企業の HTS 部門で広く利用され、効率的なスクリーニングシステム構築に大きく寄与しています。プロメガのアッセイ試薬の特長は生物発光を利用した高感度でバックグラウンドの低い定量を可能にする点です。酵素に対する阻害剤のスクリーニングなど生化学的なアッセイではその高感度性によりミニチュア化(マルチウェルプレート)を容易にするため、使用する酵素、化合物のコストを低減することができます。また、培養細胞を用いたアッセイの場合、蛍光法では励起光をこの複雑な生体サンプルに照射するため、バックグラウンドが高くなる傾向にありますが、発光法では実質的に目的のシグナルだけを高感度に検出することができます。またアッセイケミストリの改良により、多くの試薬はステップ数の少ないホモジニアス(各ウェルに試薬を分注して測定する簡便なフォーマット) & 長時間発光フォーマットであるため、ロボットによる自動化も容易です。

今回は創薬研究でも汎用性の高い細胞の増殖試験試薬 CellTiter® 2.0 / CellTiter-Fluor™ とアポトーシス検出用の Caspase-Glo® 3/7 をご紹介いたします。

**CellTiter-Glo® 2.0** は最新型の細胞生存性試験で細胞由来の ATP を発光に変換し、細胞の生存性を測定します。培養細胞に試薬を加えて 10 分後には測定でき、MTT などの発色法では困難な細胞数のわずかな変動も検出できます。2.0 は溶液状態(4℃~22℃)で保存できるので、従来品のように凍結保存/融解の手間がなく、手軽にアッセイを行うことができます。冷蔵庫から取り出してすぐにアッセイすることができます。

**Caspase-Glo® 3/7** は発光による細胞内カスパーゼ 3/7 活性測定試薬です。数多くのアポトーシス判定試薬の中でも最も簡便、高感度であるため、多検体サンプルの処理に威力を発揮します。CellTiter-Fluor™ とのマルチアッセイが可能で、1 ウェルから細胞の生存性とアポトーシス(カスパーゼ 3/7 活性)の 2 つのパラメーターを測定することができます。その他のカスパーゼ測定については別途お問い合わせください。

**CellTiter-Fluor™** は蛍光法による細胞生存性試験で、新規な細胞生存マーカーである特定のプロテアーゼ活性を測定します。蛍光および発光を検出できる装置があれば、同じサンプルウェルで CellTiter-Glo® 2.0、Caspase-Glo® やレポーター酵素の発光アッセイを実施し、2 つのパラメーターを測定するマルチアッセイが可能になります。

上記試薬は会員の皆様に特別価格でご提供しています。(下記参照)

## 創薬研究におすすめ製品ランキング 🏆 ~ 培地に試薬を添加するだけ! 製品特集 ~

今なら会員限定特価! ※注文時に会員 ID 番号を必ず明記ください。

1 ATP 発光

### 10分でサクッと簡単生存性測定

CellTiter-Glo® 2.0 Assay (Cat.no G9241)

10 ml 14,000円 → 7,000円

※ 96 ウェルプレートの場合 100 ウェル分 (100 µl/ウェル使用時)

2 Caspase-3/7 発光

### 1液加えるだけの簡単アポトーシス検出

Caspase-Glo® 3/7 Assay (Cat.no G8090)

2.5 ml 19,000円 → 9,500円

※ 96 ウェルプレートの場合 25 ウェル分 (100 µl/ウェル使用時)

3 生細胞プロテアーゼ 蛍光

### 貴重なサンプルから最大限の情報を引き出す マルチアッセイに最適!

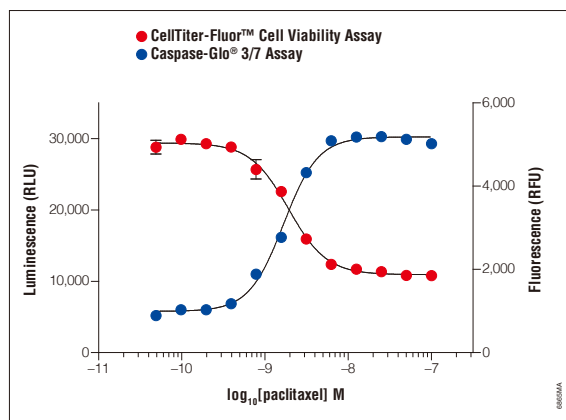
CellTiter-Fluor™ Cell Viability Assay (Cat.no G6080)

10 ml 16,000円 → 8,000円

※ 96 ウェルプレートの場合 100 ウェル分 (100 µl/ウェル使用時)

#### マルチアッセイ例

マルチアッセイとは…同一ウェル内で複数のパラメーターを測定



CellTiter-Fluor™ Assay と Caspase-Glo® 3/7 Assay のマルチアッセイ  
CellTiter-Fluor™ Reagent をウェルに添加、37℃ 30分インキュベーション後、生存性を測定した。その後 Caspase 3/7 試薬を添加し、30分インキュベーション後発光を測定 (10,000 細胞 / ウェル)

ポイント!

簡単 & 高感度測定

だから、複数のパラメーター測定が可能

まだまだ知りたい方は、こちらのセミナーにご参加ください。



バイオルミネッセンス（生物発光）によるアッセイは蛍光法と比較し、感度が高く大きなダイナミックレンジを備えているため基礎研究から創薬にいたる場面で様々な高感度・微量アッセイに利用されています。さらに近年では、生物学的関連性の高い有効なデータを得るために、生体により近い生理条件下 (*in vitro* よりも *in vivo*、継代培養細胞より初代培養細胞、強発現より内在発現) でのアッセイが強く望まれておりバイオルミネッセンスが活躍する場面が増えてくると予想されます。

新しく開発された NanoLuc® は従来のルシフェラーゼよりも明るく（ホタルの 100 倍以上）、分子量が小さい（19 kDa）ため、少ない分子数でも十分な感度が得られ、ゲノム編集技術などとの組み合わせで内在発現レベルでの変化も鋭敏に観察することができるようになります。

NanoLuc® は転写解析あるいは細胞内パスウェイ解析のためにより進歩したレポーター遺伝子としての利用はもちろんのこと、細胞内タンパク質の挙動を調べるための高感度な発光タグとして（タンパク質の安定性 / 分解、タンパク質間相互作用 [NanoBRET™, NanoBiT]）あるいは試薬として（細胞増殖試験 [RealTime-Glo™]）、基礎研究はもとより創薬研究を加速させる有効なツールとして利用することができます。

## プログラム

### バイオルミネッセンスの基礎「これだけは知っておきたい発光アッセイ技術」

プロメガ株式会社 テクニカルサービス部 部長 工藤 勤

### 高次元細胞実験に対応した最新の生存性・毒性試験

プロメガ株式会社 テクニカルサービス部 大田光徳 Ph.D.

### NanoLuc® ルシフェラーゼ：これまでで最高のレポーター **基礎編**

プロメガ株式会社 テクニカルサービス部 桃井道子 Ph.D.

### NanoLuc® ルシフェラーゼ：次世代の機能性レポーター **応用編**

Promega Corporation Director of Research Innovative Biology Frank Fan. Ph.D.

## 日時

9 / 8 (火)	東京	秋葉原：富士ソフトアキバプラザ	14：00 開演予定
9 / 9 (水)	茨城	つくば：つくば研究支援センター	13：30 開演予定
9 / 11 (金)	大阪	千里：千里ライフサイエンスセンター	13：30 開演予定

## 事前登録

セミナー参加希望の方は以下のサイトより事前登録をお願いいたします。

[http://promega.formstack.com/forms/jp\\_2015biolumseminar](http://promega.formstack.com/forms/jp_2015biolumseminar)



### 質問コーナーもあります！

セミナー終了後、弊社の技術スタッフが発光レポーターに関する質問を個別に承ります（事前登録が必須）。

内部標準  
ベクター

0円

## NanoLuc® DLR キャンペーン

2015年12月末日まで

スターターセットで今なら直ぐに Nano DLR™ をスタート！

内部標準  
ベクター

+

定量  
試薬

Nano DLR™ スターターセット：

39,000 円の定量試薬に内部標準ベクター（定価 68,000 円）を無償添付！

詳しくはこちらから [http://www.promega.co.jp/nanovspecial\\_starter.html](http://www.promega.co.jp/nanovspecial_starter.html)



プロメガクラブ会員を対象としたキャンペーンおよびプログラムです。  
ご利用になる際は、ホームページよりプロメガクラブにご登録し、  
プロメガクラブ ID 番号を取得してください。  
会員特典を利用する場合は、必ず ID 番号を明記ください。

## クラブ会員だけの期間限定キャンペーン

# 今月のおすすめ特価情報

特価期間

2015. 7. 21 ~ 9. 30



### 室温保存特集

実験の手間を解消!



● 取扱いが簡単! 室温保存 Proteinase K  
Proteinase K (PK) Solution 4 mL (cat no.MC5005) ~~17,000円~~



蛍光試薬

● ゲル電気泳動後の染色に!  
~ エチジウムブロマイドより安心で高感度! ~  
Diamond™ Nucleic Acid Dye 500 µl (cat no.H1181) ~~19,000円~~

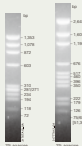
\* 1万倍希釈にて使用

高感度なため、マーカーやサンプル量が抑えられ、コストの削減につながります。

※ 最長 90 日までは室温保存可能。長期保存の場合は、-20℃でご使用ください。

※ UV トランスイルミネーター・ゲルイメージャーなどの標準的なイメージングシステムに対応

● 電気泳動マーカー ~ 室温保存 BenchTop シリーズ ~ もちろんローディングダイ添加済み!



製品名	定価
BenchTop φ x174 DNA / <i>Hae</i> III Markers (cat no.G7511) [72 bp ~ 1,353 bp] : 50 レーン分	<del>21,000円</del>
BenchTop PCR Markers (cat no.G7531) [50, 150, 300, 500, 750, and 1,000 bp] : 50 レーン分	<del>19,000円</del>
BenchTop 1 kb DNA Ladder (cat no.G7541) [250, 500, 750, 1,000 ~ 6,000, 8,000, and 10,000 bp] : 100 レーン分	<del>20,000円</del>
BenchTop 100 bp DNA Ladder (cat no.G8291) [100 ~ 1,000, and 1,500 bp] : 50 レーン分	<del>16,000円</del>

※ 注文方法: 専用注文用紙でご注文ください。(クラブウェブページから入手) 注文時に会員 ID 番号を必ず明記ください。

10,000円  
均一

## Hot News



### クラブ特価対象製品が追加!

Wizard 1000 回分 コスト削減に最適!

- プラスミド精製  
(Wizard® Plus SV Minipreps DNA Purification System : A1465) **135,000円**
- ゲル & PCR 産物精製  
(Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System : A9285) **135,000円**

ReliaPrepRNA カラム単品 キットの試薬を余さず使用!

- ReliaPrep™ RNA Cell/Tissue 用カラム  
(ReliaPrep RNA ミニカラム (with Collection Tube) : A207RM)  
**50 個入り 12,000円**



### RentaMAX !! 《会員のための機器貸出しプログラム》

血液・組織・細胞・FFPE・ウイルスからの  
自動核酸精製装置 Maxwell®RSC 用 RNA / miRNA / DNA 精製各種キットが **30% OFF!** (2015年9月末まで)  
試薬をご購入いただければ、機器お貸し出し & スペシャリストが条件検討いたします。

詳しくはこちらから↓  
[http://www.promega.co.jp/rinsho\\_mx](http://www.promega.co.jp/rinsho_mx)



### ヒト細胞認証 ~ 論文投稿時に必要になるジャーナルが増えています! ~

詳しくは「STOP! 細胞誤認」をご覧ください。

- JCRB 細胞バンクによる細胞認証 (認定書付)  
今ならマイコプラズマ簡易検査がついてきます。(1万円相当)

プロメガホームページから  
[http://www.promega.co.jp/pdf/naninani\\_ninsho\\_vol3.pdf](http://www.promega.co.jp/pdf/naninani_ninsho_vol3.pdf)

期間: 2015年7月21日 ~ 12月20日まで 詳しくはこちらから <http://www.promega.co.jp/hca/>

プロメガクラブウェブサイト: <http://www.promega.co.jp/promegaclub.html>

テクニカルサービス • Tel. 03-3669-7980 / Fax. 03-3669-7982 • E-Mail : [prometec@jp.promega.com](mailto:prometec@jp.promega.com)

# プロメガ株式会社

本社 〒103-0011  
東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル  
Tel. 03-3669-7981 / Fax. 03-3669-7982

大阪事務所 〒532-0011  
大阪市淀川区西中島6-8-8 花原第8ビル704号室  
Tel. 06-6390-7051 / Fax. 06-6390-7052

※製品の仕様、価格については2015年7月現在のものであり予告なしに変更することがあります。

販売店