

# NEXT

ThermoFisher  
SCIENTIFIC

No. 66

2023 / June

Science, Products and Information

サーモフィッシャーサイエンティフィック  
ライフサイエンス情報誌

DNA 70th Anniversary 特別インタビュー

## ヒトゲノム構築研究を推進

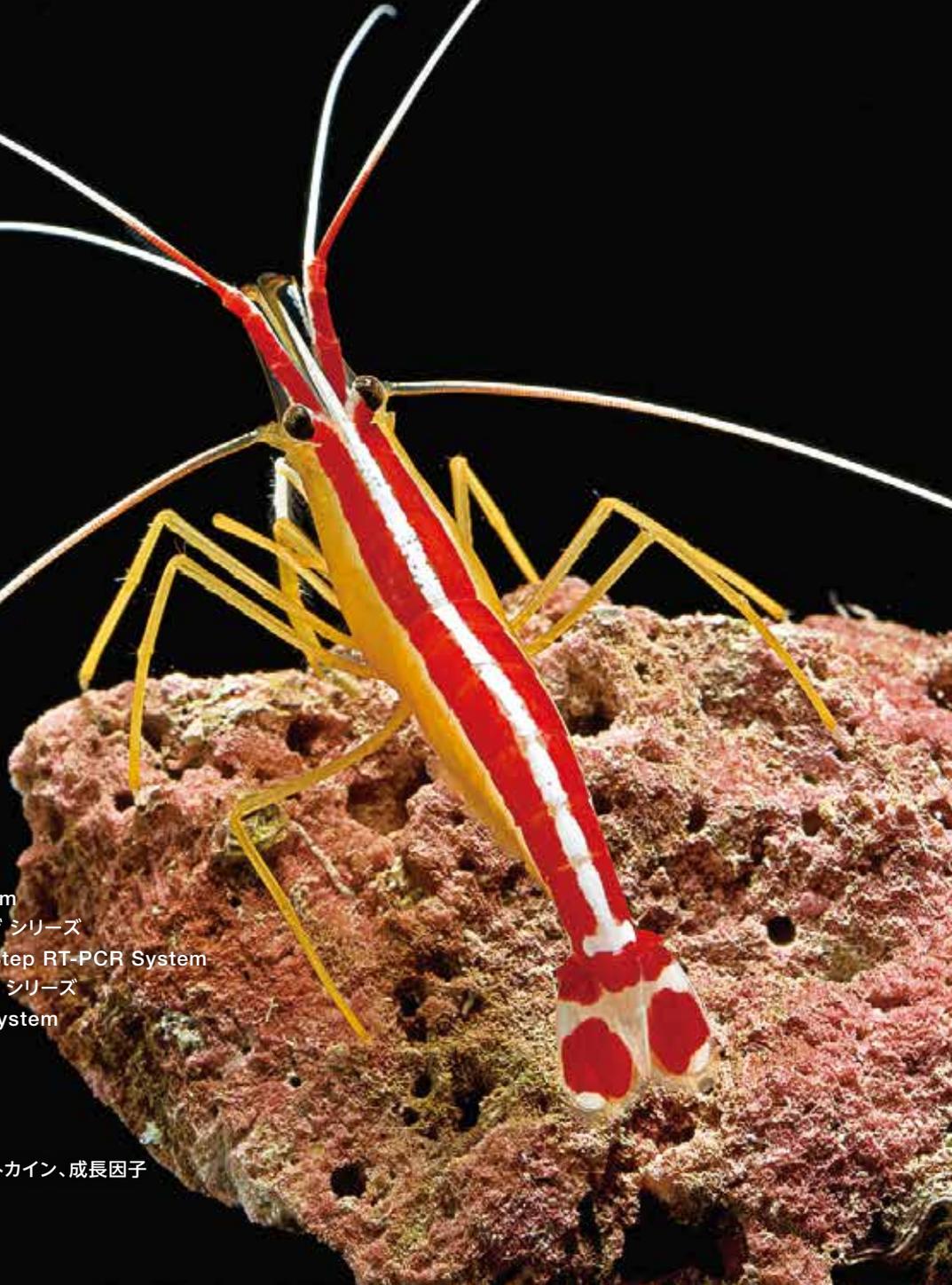
大規模なゲノム改変技術の開発、そしてヒトゲノムの完全理解へ

相澤康則 氏

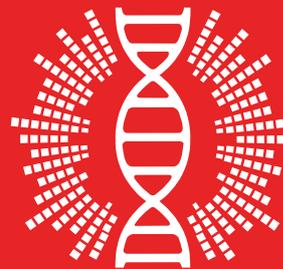
東京工業大学 生命理工学院 准教授

神奈川県立産業技術総合研究所 次世代合成生物基盤プロジェクト リーダー

- P. 06 Thermo Fisher Connect Platform
- P. 07 SeqStudio ジェネティックアナライザ シリーズ
- P. 08 SuperScript IV UniPrime One-Step RT-PCR System
- P. 09 KingFisher Purification System シリーズ
- P. 10 iBlot 3 Western Blot Transfer system
- P. 11 Attune CytPix Flow Cytometer
- P. 15 Gibco カスタム培地製造サービス
- P. 16 サーマルサイクラー温度検証サービス
- P. 17 VetMAX MastiType Kit
- P. 20 PeproTechブランドの組み換えサイトカイン、成長因子



# Celebrate DNA 70th Anniversary



## 祝! DNA 70周年記念

Celebrating 70 years of breakthroughs.

1953年4月、Nature誌にDNAの二重らせん構造発見の論文が掲載されました。

この知見を基に分子生物学が誕生し、新たな技術や解析機器が次々と開発され、遺伝子解析技術は急激な進歩を遂げました。

そして現在でも、未来につながるブレイクスルーが日々発表されています。

本年2023年はDNA構造発見から70年、PCR法発明から40年、ヒトゲノム解読終了から20年の節目となる年です。

サーモフィッシャーサイエンティフィックは、世界中の研究者とともにこれまでのDNA研究の飛躍的な発展をお祝いし、研究のさらなる進化と幅広い浸透をサポートしてまいります。



### DNA HISTORY

**1953**  
DNAの  
二重らせん  
構造発見が  
論文発表される

**1975**  
Fredrick Sangerらが  
DNAポリメラーゼと  
プライマーを用いて  
塩基配列決定法を開発

**1980**  
Walter Gilbert と  
Frederick Sangerが  
DNA塩基配列決定の手法  
を開発した功績により  
ノーベル化学賞を  
共同受賞

**1990**  
ヒトゲノムの  
全塩基配列を解読する  
「ヒトゲノムプロジェクト」開始

**1995**  
PCR法による  
DNAフィンガープリントが  
O.J.シンプソン事件で  
法廷証拠として採用

**1972**  
最初の組換えDNA研究が  
スタンフォード大学の  
Paul Bergらによって実現

**1977**  
ハーバード大学の  
Allan Maxamと  
Walter Gilbertらが  
化学的な塩基配列  
決定法を開発

**1983**  
Kary B. Mullisが  
PCR法を発明

**1993**  
Kary B. Mullisが  
PCR法考案の功績により、  
ノーベル化学賞を受賞

**1997**  
クローン羊"Dolly"誕生/  
データ公開に関する  
バミューダ原則が確立

# DNA 70周年記念関連イベントのお知らせ

DNA70周年を記念して、サーモフィッシャーサイエンティフィックはDNA/RNA研究に関するセミナーを日本各地で実施いたします。またポスターやノベルティ等のプレゼントも企画中です。ぜひ特設ページから最新情報をご確認ください。特設サイトはこちらから → [thermofisher.com/celebrate](https://thermofisher.com/celebrate)

## DNA 70th Anniversary セミナー

デジタルPCRやゲノム編集とシーケンス解析など、最新の遺伝子解析技術を分かりやすく説明します。会場では、デジタルPCRシステムや自動核酸抽出システムや核酸定量システムなど、各種遺伝子解析関連機器を展示し、実機操作やソフトウェアを体験できます。2023年6月から7月まで、全国5都市で開催予定です。ご都合に合わせて、ぜひご参加ください! 詳細とお申し込みは、右記ページをご確認ください。



### RNA Day 遺伝子発現解析セミナー 2023

効果的に遺伝子発現解析を行うための解析アプローチの選択とアプリケーションの理解、さらに活用方法を紹介いたします。全国数か所で開催予定です。オンラインでも参加できます。詳細とお申し込みは右記のQRコードから。



### 限定版アートポスタープレゼント

DNA 70周年を記念して、3人のアーティストがDNA研究の飛躍的な進化と驚異をアートポスターで表現します。1年を通じて、4種類の限定ポスターを3カ月毎に1枚ずつお届けします。詳細は特設サイトをご覧ください。



### Ion Torrent World Tour ユーザーグループミーティング2023

「Ion プラットフォームを用いた臨床研究の最前線～NGS解析のいま～」と題して2023年7月15日(土)東京で開催予定です。詳細とお申し込みは下記サイトから。  
[thermofisher.com/jp-ion-ugm2023](https://thermofisher.com/jp-ion-ugm2023)





## ヒトゲノム構築研究を推進

大規模なゲノム改変技術の開発、そしてヒトゲノムの完全理解へ

相澤康則 氏

東京工業大学 生命理工学院 准教授

神奈川県立産業技術総合研究所 次世代合成生物基盤プロジェクトリーダー

### Anniversary 特別インタビュー

2003年のヒトゲノム解読終了は、ゲノム研究の最終段階ではなく、飛躍への最初のステップだったと語る東京工業大学の相澤康則氏。大規模なゲノム改変を可能にする技術を開発し、新たにゲノム構築の時代を切り拓こうとしています。アカデミックのみならず、産業界全体へ大きなインパクトを与えるゲノム改革を実現するための技術プラットフォームとこれからの展望を相澤氏に伺いました。

相澤康則(あいざわ やすのり)

1999年京都大学大学院 薬学研究科 博士課程を修了後、コロンビア大学 生化学・生物物理学部 博士研究員、ジョンズ・ホプキンス大学 医科学研究所 分子生物・遺伝学部 博士研究員などを経て現職。GP-write(ゲノム合成計画)のパイロット・プロジェクトに、日本人から唯一研究計画が採用される。2019年東工大発ベンチャーとして株式会社Logomixを創立。最高科学責任者(CSO)を兼務。2023年、神奈川県立産業技術総合研究所(KISTEC)次世代合成生物基盤プロジェクトのリーダーに就任。

インタビュー：サーモフィッシャーサイエンティフィック 橋本裕子

## DNA研究を始めたきっかけとは？

生物をシステムとして捉え、進化が長い時間に試行錯誤を繰り返して築き上げてきた「生物システム」の基本原則を突き止めたいというのが大きな動機です。生物システムを網羅的に探索するにはトランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームなど様々なオミックスレイヤーを観る必要がありますが、各オミックスレイヤーにはゲノムを最下層レイヤーとしてそこから遺伝子情報が展開されており、各オミックスからの情報はゲノムヘフィードバックされています。私には、個々の遺伝子や個別の生命現象を個別理解するよりも、ゲノムを通して生物システム全体の根本原則を解明すべきでは、といった考えが学生時代にぼんやり浮かんでいました。そんななか、修士1年の時に森井孝先生（現京大教授）と出会いました。森井先生は化学的思考から極めて単純化した転写因子のモデル分子を設計合成され、転写因子の機能発揮に必要なDNA配列認識機構を研究されていました。1990年代当時は、X線結晶解析やNMRによるタンパク質の構造解析が全盛期で、転写因子とDNAの複合体の立体構造も原子レベルで解析できる刺激的な時代でした。転写因子のゲノムDNAに対する認識機構はすべての生物における共通の重要な分子イベントであり、生物システムの根源的ルールにアプローチできることに興奮し、博士学位取得の多感な時期を森井先生のもとで研究に打ち込むという幸運に恵まれました。その後、1999年にポスドクとしてコロムビア大学に留学してバクテリアのトランスポゾン（移動遺伝子）を研究していましたが、2000年のヒトゲノム解読発表に接して、ヒトという生物システムに一発で魅せられました。ヒトゲノム領域の大半がトランスポゾン配列に占められていることに衝撃を受け、その研究をしたいと強く思いました。そして2002年にジョンスホプキンス大学に移籍し、ヒトのトランスポゾンの研究を開始しました。

## ヒトゲノムの非コード領域の謎を解く技術開発へ

2005年に帰国しましたが、ヒトゲノムへの興味は変わらず、ゲノムの約98%という大部分を占めるイントロンやトランスポゾンなどの非コードDNA領域の研究を自分の研究室で開始し、今でも続けています。イントロンは本当に必要なのか、ヒト細胞が増殖する上で必要十分な遺伝子や非コード領域はどれくらいなのか、興味が尽きません。すでに単細胞のマイクプラズマでは、2016年に米国のクレイグベンダーらがミニマムゲノムを報告しています。彼らは2008年にマイクプラズマの全ゲノムの人工合成に成功し、2010年に人工合成ゲノムで生きるマイクプラズマを作製しました。ベンダーらは化学合成したミニマムゲ



ノムで増殖する人工生命の作製に成功したのです。彼らの研究を含め、ゲノム合成技術や合成生物学的技術と知見がこの10年間で大きく前進しています。

私たちが昨年、ゲノム編集のCRISPR技術をさらに発展させて、ヒト細胞で大規模なゲノム改変が行えるゲノム置換プラットフォームを開発し、ユニバーサル・ノックイン・システム(UKiS)と名付けました<sup>\*</sup>。UKiSを使えば、100万塩基対規模の非常に長いヒトゲノム領域を正確に欠損させたり、余分な領域を残さずに入れ替えたりした細胞を効率よく作製できます。また、アレル特異的な改変も行えるので、対立遺伝子を片方だけ、もしくは両方ともに改変することも自在です。ヒトゲノム改変へのUKiS技術の有用性を検証するために、ヒト培養細胞内でイントロンに対する変異体解析を実施しました。イントロンは高校の教科書にも載っているほどよく知られていますが、イントロンの役割について未解明なことがたくさんあります。その理由は、一般にヒト遺伝子のイントロンは長いので、イントロン全体を染色体上で直接改変する方法がなかったからです。しかしUKiS法を使えばこれが可能になることを示し、これまで明らかにならなかったイントロンの機能的役割を実験的に示すことができました。例えば、CD44遺伝子、MET遺伝子、APP遺伝子(それぞれの全長は約9.4万塩基対、約13万塩基対、約29万塩基対)の全イントロンゲノム領域をUKiS法で欠損させ、いずれの遺伝子でも全イントロンが1塩基対の間違ひもなく正確に欠損した細胞株を効率よく取得できました。そして得られた細胞を解析したところ、3つの遺伝子で転写発現量が減少していることが明らかになり、ヒト遺伝子におけるイントロンの必要性を実験的に示すことができました。

UKiS法はヒトiPS細胞においても効率よくゲノム改変が可能であることから、UKiS法は医療や産業に役立つ様々なゲノム改変型iPS細胞の開発に活用できると期待できます。そこで私たちは、UKiSも活用して大規模ゲノムエンジニアリングプラットフォーム事業を広く社会活用できるように、2019年にベンチャー企業を立ち上げました。既存のゲ

ム編集技術を超えて、ゲノムを新たに設計・合成することで、ゲノム編集とはまったく次元の異なる応用が見込まれます。治療法の開発、有用微生物の作製、病原体抵抗性の畜産やペットなど社会全体に役立つことを目指しています。

<sup>\*</sup>'Biallelic and gene-wide genomic substitution for endogenous intron and retroelement mutagenesis in human cells' NATURE COMMUNICATIONS(2022) 13:4219

## ヒトゲノム革命が引き起こす新たな産業改革を見据えて

2000年初頭のヒトゲノム解読以降も、ヒトゲノム革命は進行中です。その進展をホップ、ステップ、ジャンプの3段階に例えると、第1段階のホップはヒトゲノム解読の「Read」、第2ステップは2000年以降に活発化したゲノム編集技術の「Edit」、そして最終ステップのジャンプはゲノム構築技術の「Write」だといえます。ゲノム構築は未だ黎明期にありますが、ヒトゲノム解読技術が様々な分野で応用されている今日の状況を見れば、ゲノム構築技術もこの先、今までは全く想像できない大きな産業変革を引き起こしていると断言できます。例えばすでに、大腸菌の全ゲノムを書き換えてファージ抵抗性を獲得させる論文が報告されています。この大腸菌ではセリンをコードする6つのコドンのうち、2つのコドンを使えないので、たとえファージが侵入しても大腸菌内でウイルスは自身のタンパク質を翻訳できないため自己増殖できず、感染が成立しません。このように、ゲノム構築ではかつて想像していなかったことが可能になります。将来的には様々な疾患が、ゲノム構築技術を用いた細胞治療で完治できるのではと妄想しています。科学者にも妄想は大切です。合成生物学の進展により、すでにSFよりも現実の科学技術の進歩の方が先を行っています。従来のように目標を定めて技術開発に取り組むのではなく、先進的な技術を豊かなイマジネーションで追いかけていく時代が到来しているとみられます。ゲノムをゼロから構築する技術が拓く新しい世界で何ができるのか、妄想力が必要となります。

藤江 学 氏(沖縄科学技術大学院大学シーケンシングセクション 技術主任)

## 多様なシーケンス解析のニーズに応えるコアファシリティを目指して クラウド接続サービスのThermo Fisher Connectで共通機器を安全、効率的に運用



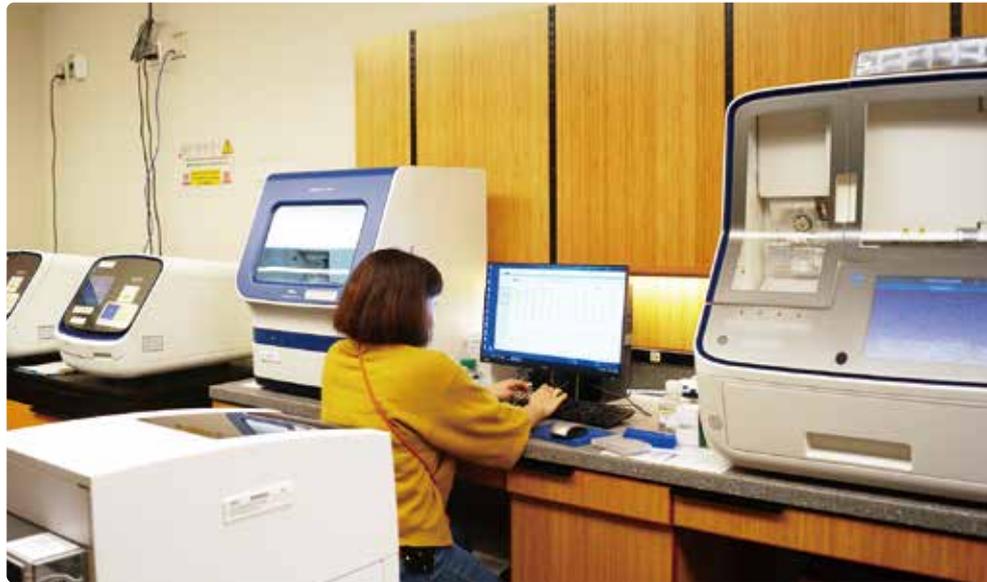
「沖縄科学技術大学院大学(OIST)は、先進的な機器を共同管理して効率的に利用するコアファシリティを設置しています。その一つ、私が所属するシーケンシングセクション(SQC)は、各種遺伝子解析機器(ユーザーがアクセスできる共通機器)の維持管理や、第2世代および第3世代シーケンサを用いた解析サービスを担当しています。共通機器の管理を始めた2011年頃から我々が困っていたことは、共通機器の解析データをUSBストレージを介してユーザー個人のパソコンに移動することをきっかけに、学内にコンピューターウィルスの感染が拡大することでした。ネットワークセキュリティの担当部署からはUSBストレージを使った解析データのやり取りを控えるように要望されましたが、ネットワークに接続でき且つ共通機器として運用可能な機器は当時ほとんど存在せず、ようやく数年前にクラウド接続可能なキャピラリーシーケンサを導入し、IT部門からの要望に応えられる運用が可能になりました。」と藤江学氏は語ります。

### クラウド接続で情報セキュリティの確保と利便性向上へ

「記憶媒体のUSBは、パソコンに差し込んだだけで自動実行(Auto run)機能によりUSB媒介ウイルスに容易に感染します。そのため利用者のUSBストレージから、共通機器を

介してOIST全体にウイルスが広がっていくケースが何度かありました。データ量が多い第2世代および第3世代シーケンサではクラウド利用が一般的ですが、キャピラリーシーケンサはクラウドが一般化する前から汎用されてきたため、USBストレージを使い続けていました。2017年に、発売間もないApplied Biosystems™ SeqStudio™ ジェネティックアナライザを2台導入してクラウド接続し、ようやく情報セキュリティリスクを軽減できる共通機器運用の第一歩を踏み出せました。IT

部門と相談しながら安全な形でネットワークに接続し、我々が管理しやすいように研究ユニット毎にアカウントを発行しています。そうすることで管理部門も運用状況をチェックでき、解析結果のログも共有できるのでトラブルへの対応を迅速に行えます」と藤江氏。「また利用者への利便性も徐々に浸透しています。例えばこれまでキャピラリーシーケンサ使用時は、サンプルセットと解析後のデータダウンロードのために最低2回は共通機器室に来室し、さらに運転状況が気になる時は



## Thermo Fisher Connect Platform

### クラウドベースのデータストレージやデータ解析アプリを提供

Thermo Fisher™ Connect Platformを使えば、機器に接続された安全なクラウドベースのストレージに、どこからでもアクセスできます。研究室の機器の稼働時間をリモートでスケジュールしたり、進行状況をモニタリングでき、最新の解析アプリケーションを使用できます。

- **安全なデータストレージ**: Amazon Web Services™ (AWS) プラットフォームを利用した世界基準の強固なセキュリティ。10 GBの無料個人ストレージ(グループストレージの場合100~200 GB)を提供
- **データ解析アプリ**: リアルタイムPCR、次世代シーケンシング、サンガー法シーケンシングなど幅広いアプリケーションに対応
- **バックアップ**: 安全なプライベートクラウドアカウントにファイルを保存し同期
- **共有機能**: いつでもどこでもだれとでも、安全な環境で、グループでの共同作業やコミュニティとの連携が可能



途中で来室にすることもありました。OISTはLab5という建物が2023年4月から運用開始され、現在、合計5つの研究棟が稼働しています。離れた研究棟からは往復で10分程度かかり、解析状況の確認のために共通機器室へ行くとなると、その度に実験を中断することになるので非効率的です。クラウド接続したシステムを使うことで、サンプルプレートシーケンサへセットして解析をスタートさえすれば、途中経過や解析データは各自の研究室から確認でき、使用後のサンプルプレートは次の予約者が所定の位置に置いておくことで、自分のタイミングに合わせて回収できます」と続けます。

#### 多様なサンプルを各種シーケンサで解析

OISTの教員および学生の半数以上は海外の出身者で50以上の国と地域から研究者が集い、生物学、化学、コンピュータサイエンス、生態学・進化学、工学・応用科学、海洋科学、数学、神経科学、物理学の専門分野において幅広い科学と教育に取り組むとともに、分野の垣根を越えて協業しています。「我々が提供するシーケンシングサービスや管理している共通機器は、約30ユニットの研究グループ、人数で言うと約300名の方々が常時利用しています。主な利用者は生物系の研究者で、サンプルが確保しにくい希少な生物や沖縄特有のサンゴなどの海洋生物、

さらに温暖化などの環境問題解決へのアプローチなど多彩なテーマでシーケンサを利用しています。最近では化学系、工学系などの研究者たちもシーケンサを使っており、ユニークなテーマで共同プロジェクトを立ち上げてシーケンサを使うケースが増えています。化学系では、核酸配列中に欠失、挿入、置換などの変異を導入し、その変異箇所をシーケンサで調べたりしています。幅広いバックグラウンドの方が使いますが、キャピラリーシーケンサの技術はすでに成熟しているので利用者自身が機器操作まで行います。またSeqStudio シリーズは操作性が簡便なため、これまで外部に受託解析を依頼していたユーザーも自身の手で解析するケースが増えているようです。2019年までに4本キャピラリーのSeqStudioジェネティックアナライザを3台導入しましたが、96サンプルを連続解析する利用者も出てきたので、昨年24本キャピラリーのSeqStudio Flexジェネティックアナライザを導入し、同様にクラウドに接続して使っています。管理面でも、キャピラリー交換が簡単なので、共通機器室の運用管理に適しています。一方、Applied Biosystem™ 3500 ジェネティックアナライザも導入していますが、3130や3730などの従来機器のインターフェースに慣れ親しんだ方たちは、こちらのシーケンサを使うケースが多いようです」と藤江氏は語ります。



#### 効率的な共通機器運営を目指して

「多様な研究テーマだけでなく、研究者の入れ替わりも頻繁なため、共通機器の導入に際しては、性能や利用者からの要望と共に簡便な操作性や管理のしやすさなどを考慮しています。別の目的で導入した、リアルタイムPCRシステムのApplied Biosystems™ QuantStudio™ 6/7 ProもSQCで管理していますが、これらの機種もクラウドに接続して効率的に使っています。今後、クラウド接続可能な機器をプラットフォームとして、情報セキュリティを確保しつつ運営管理を効率化し、使用者の利便性向上に努めたいです」と藤江氏は最後に語ります。

※沖縄科学技術大学院大学が、これらの製品やサービスを支援または推奨・推薦するものではありません。

## SeqStudio ジェネティックアナライザ シリーズ

### 信頼のキャピラリー電気泳動ベースのシーケンサ

4本キャピラリーのApplied Biosystems™ SeqStudio™ ジェネティックアナライザ、8本および24本キャピラリーのApplied Biosystems™ SeqStudio™ FLEX ジェネティックアナライザを提供しています。キャピラリーアレイ装着が簡単で、ワンボタンで起動でき、シーケンスもフラグメント解析も信頼性高く行えます。



| 製品名                                                  | サイズ | 製品番号                | 価格          |
|------------------------------------------------------|-----|---------------------|-------------|
| SeqStudio ジェネティックアナライザ コンピュータ付システム                   | 1 式 | SEQ-D-S2            | ¥9,944,000  |
| SeqStudio 8 Flex ジェネティックアナライザ シーケンシング解析 コンピュータ付システム  | 1 式 | SEQ8FLEX150-D-BA01  | ¥24,045,000 |
| SeqStudio 24 Flex ジェネティックアナライザ シーケンシング解析 コンピュータ付システム | 1 式 | SEQ24FLEX150-D-BA01 | ¥29,845,000 |

# SuperScript IV UniPrime One-Step RT-PCR System 高感度なワンステップRT-PCRを実現!

POINT

Invitrogen™ SuperScript™ IV UniPrime™ One-Step RT-PCR Systemは、高感度なワンステップ RT-PCRを実施するための試薬キットです。優れた逆転写酵素のSuperScript IVに、高感度、高収率、高い特異性を特徴とするInvitrogen™ Platinum™ SuperFi™ II DNA Polymeraseを組み合わせ、簡便なワンステップRT-PCRを実現します。

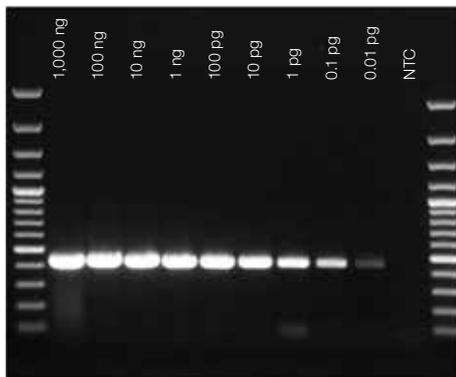
- Platinum SuperFi II DNA Polymeraseとのコンビネーションで、高感度を実現
- バッファー色の変化で、ピペティングミスを防止  
※SuperScript IV UniPrime One-Step RT-PCR System, Coloredを使用した場合
- 60℃のユニバーサルアニーリングによるシンプルなワークフロー
- 最大24時間、室温で安定なので自動化プロトコルに対応可能

NEW!



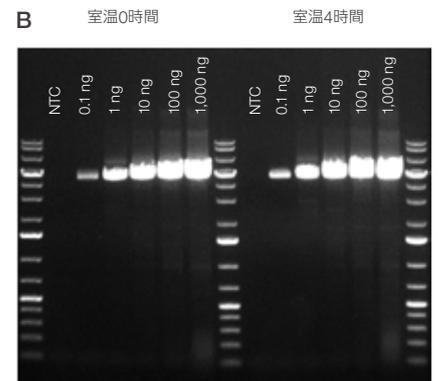
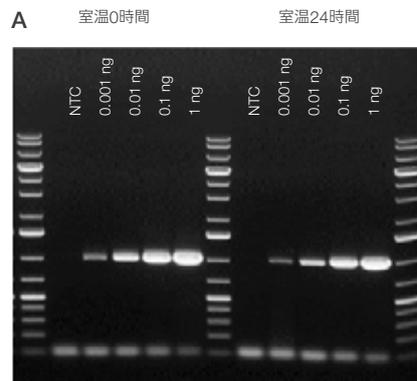
## ▶ 0.01 pgのRNAを高感度に検出

Taq ポリメラーゼの300倍を超える高いフィデリティを有するPlatinum SuperFi II DNA Polymeraseと組み合わせ、インプット量が限られたサンプルや検出が困難なRNAでも、優れた感度で検出します。



## ▶ 最大24時間まで室温で安定

3 kbpまでは最大24時間、3 kbp以上は4時間まで室温で安定です。これにより、自動化ロボットによる自動化プロトコルにも柔軟に対応します。



## ▶ 先進的な2段階ホットスタートメカニズム

ワンステップRT-PCRの高い特異性と収率を実現するために、RT 酵素とPCR 酵素の活性をホットスタートで時間的に分離します。

| 18~23°C                                                                                                         | 45~60°C                                                                                  | 98°C                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>① 反応の設定</b><br>SuperScript IV RTとPlatinum SuperFi DNA Polymeraseは、非特異的活性を防止するためにホットスタートメカニズムにより不活性な状態に保たれます。 | <b>② ホットスタート活性化 第1段階</b><br>RTが活性化され、cDNA合成が開始します。DNA Polymeraseは、残効性を防ぐために不活性な状態に保たれます。 | <b>③ ホットスタート活性化 第2段階</b><br>DNA Polymeraseが活性化されると同時にRTが失活することで、このステップ後に高い効率と特異性でDNAを増幅できます。 |

| 製品名                                                      | サイズ    | 製品番号     | 価格       |
|----------------------------------------------------------|--------|----------|----------|
| SuperScript IV UniPrime One-Step RT-PCR System, Colored  | 25 反応  | 12597025 | ¥49,600  |
|                                                          | 100 反応 | 12597100 | ¥145,000 |
|                                                          | 500 反応 | 12597500 | ¥652,000 |
| SuperScript IV UniPrime One-Step RT-PCR System, Dye-free | 25 反応  | 12596025 | ¥49,600  |
|                                                          | 100 反応 | 12596100 | ¥145,000 |
|                                                          | 500 反応 | 12596500 | ¥652,000 |

赤羽俊章 氏(鹿児島大学病院腫瘍センター特例助教)

## 脳腫瘍診断のためのカスタム遺伝子パネルの開発と検証

### 融合遺伝子解析はRNA収量の高い試薬キットを使用



「2019年に脳腫瘍の遺伝子診断を目指して、次世代シーケンサ(NGS)用の遺伝子パネルを独自開発し、共同研究者と検証を進めてきました。さらに今年からは共同研究先を広げ、最終的に1,000検体程度を解析する予定です。この遺伝子パネルには融合遺伝子が含まれるため、DNAだけでなくRNAも解析対象となります。FFPE検体からのDNA抽出は、これまで使ってきた試薬キットで純度も収量も十分でしたが、問題なのがRNA抽出。検体中の組織量が少ないと解析に必要なRNAを十分回収できないことが想定されます。そのため回収率が高いRNA抽出キットを探していました」と鹿児島大学の赤羽俊章氏。赤羽氏は現在、この遺伝子パネルの核酸抽出にApplied Biosystems™ MagMAX™ FFPE DNA/RNA Ultra Kitと自動サンプル処理システムのThermo Scientific™ KingFisher™ Duo Prime Purification Systemを使用しています。RNA抽出キットの選択ポイントとカスタムパネルの開発を赤羽氏に伺いました。

#### 回収率が高いRNA抽出キットを探す

「単一サンプルからDNAとRNAを回収できる試薬キットは、複数の企業から提供されていますが、多くは遠心後の上清からDNAを抽出し、沈殿からRNAを抽出するタイプ。私たちのパネルでは、1検体当たりFFPEスライド10枚を使いますが、組織量が少ないと沈殿物が目視できず、回収

が困難になります。そこで回収法が異なるMagMAX FFPE DNA/RNA Ultra Kitを試してみました。このキットではDNAをビーズに吸着させて分離後、次にDNA除去上清からRNAを回収するので沈殿物の有無を目視で確認せずに済みます。問題となる回収率を従来法と比較したところ、RNA回収量は全9検体においてMagMAX FFPE DNA/RNA Ultra Kitが多く、さらにマニュアル操作よりも自動化システムを使うと収量が上がることを確認しました。特によかった点は、従来法ではRNA回収量がゼロの検体でもこのキットではRNAが回収できたこと。私たちのNGS解析系では、FFPE検体からは核酸200ngを使います。通常はDNAとRNAを200ngずつそれぞれ6μLの溶液に溶かしてアプライします。DNAが高純度であれば、ある程度量を減らして、RNA添加量を増やすこともできますが、それにも限界があります。今回の比較からDNA回収率には両キットで大差なく、操作性は従来品の方が若干楽ですが、脳腫瘍診断用の遺伝子パネル解析にはRNA回収量が多いMagMAX FFPE DNA/RNA Ultra Kitを使うことにしました。また山梨県立中央病院ゲノム解析センターのスタッフの雨宮健司氏からKingFisher Purification Systemを使用中と伺い、自動化装置も導入することにしました」と続けます。

#### 脳腫瘍診断は統合的に判断する時代に

「2016年、2021年とWHOの脳腫瘍病理分類が改定され、多くの腫瘍型において



組織診断だけではなく遺伝子/分子診断を含めた統合的な診断が必要になりました。現在、WHOの脳腫瘍の病理分類では7-8遺伝子に対するコピー数を含めた変異を調べることになっています。その中には、発生初期に起こるIDH1/2遺伝子変異やメチル化異常のH3-K27M変異、染色体1番短腕(1p)と19番長腕(19q)の相互転座による1p/19qの共欠失が含まれています。しかし脳腫瘍に関わる遺伝子もつと多いとの報告もあり、私たちが開発した遺伝子パネルでは、DNA解析による50遺伝子とRNA解析による37融合遺伝子の変異解析を網羅しています。すでにこれまでの研究からWHOでは分類できないサブグループも検出しており、WHOの現分類よりもさらに多くの遺伝子の解析が今後必要になると予想されます。また脳腫瘍における遺伝子変異は予後との相関性が高いと考えられており、遺伝子診断の重要性は増すと思われます。正確な脳腫瘍診断をサポートする遺伝子パネルの開発と検証をさらに進めていきたい」と赤羽氏は最後に語ります。

## KingFisher Purification System シリーズ

# DNA、RNA、タンパク質、細胞を磁気ビーズで自動精製



Thermo Scientific™ KingFisher™ Purification System シリーズは、核酸やタンパク質や細胞の単離を自動化し、マニュアル操作時間を最小限に抑えます。Applied Biosystems™ MagMAX™ シリーズなどの磁気ビーズによる精製キットを使用し、用途やスループットに合わせて機種を選択できます。MagMAX FFPE DNA/RNA Ultra Kitを使用すれば、FFPEサンプルからのDNA/RNA抽出が行えます。

※処理できる容量範囲は、選択するプレートやチューブとチップコムの組み合わせで異なります。

|           | KingFisher Duo Prime | KingFisher Apex    | KingFisher Presto  |
|-----------|----------------------|--------------------|--------------------|
| サイズ       | ベンチトップ               | ベンチトップ             | 小型ベンチトップ           |
| スループット    | 低~中スループット            | 中~高スループット          | 高スループット            |
| 処理サンプル数   | 1回あたり 12 / 6 サンプル    | 1回あたり 96 / 24 サンプル | 1回あたり 96 / 24 サンプル |
| 処理容量      | 50~5,000 μL          | 15~5,000 μL        | 50~5,000 μL        |
| 加熱        | あり(プレートA列のみ)         | あり                 | あり                 |
| 冷却        | あり(エリキュレーションストリップのみ) | あり                 | なし                 |
| UVランプ     | あり                   | あり                 | なし                 |
| バーコードリーダー | オプション(外付け)           | あり(内蔵)             | なし                 |

## iBlot 3 Western Blot Transfer system

# スループットとスピードが向上! タンパク質高速転写装置

### POINT

Invitrogen™ iBlot™ 3 Western Blot Transfer Systemは、ready-to-useの消耗品を使用し、高いパフォーマンスと利便性を実現する次世代型のドライ式タンパク質転写システムです。優れた転写効率で、ラボの生産性を高め、再現性の高い結果を提供します。

- 1台で2台分のパフォーマンス
- タンパク質転写は最短3分…信頼性が高く、ハイクオリティーの転写を最短3分で実現
- 優れた転写効率…時間のかかるウェット式やセミドライ式など、他の転写法や装置と同等以上の転写効率
- スループットの向上…最大でミニサイズ4枚、ミディサイズ2枚の転写が可能
- 大型スクリーンと使いやすいインターフェース…大型タッチスクリーンを搭載し、カスタムプログラムも作成可能

NEW!



## 従来のはそのままで、高いパフォーマンスと利便性を実現!

### 冷却機能

温度上昇を抑え、連続ランでも再現性の高い転写が可能

### スタックセット

- より簡単なスタックセットアップ
- ドライ式なので、使用後の装置洗浄も不要

### プリセットプログラム内蔵

最適なプログラムがあらかじめ搭載

### 直観的に操作可能なタッチスクリーン

### 新しいハンドルデザイン

操作性の向上

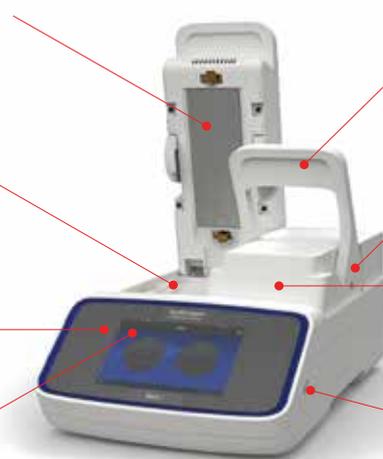
### ヒンジデザインの改良

### デュアルステーション

異なるプログラムを別々に作動可能

### USBポート

データ出力およびソフトウェアアップデート用

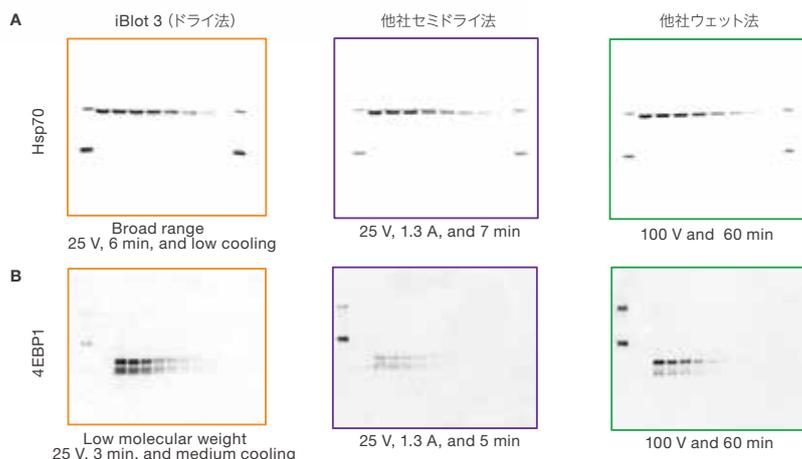


## 優れた転写効率

### 各転写方法での転写効率

(A) Hsp70: Invitrogen™ NuPAGE™ 4~12% Bis-TrisミニゲルにA431ライセートをそれぞれ20, 15, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 µg/レーン添加。ゲル電気泳動後、図上に示した方法と条件でタンパク質を転写。Hsp70一次抗体(1:1,000)、Goat anti-mouse-HRP 二次抗体(1:120,000)の条件で抗体反応。検出にはThermo Scientific™ SuperSignal™ West Duraを使用。Invitrogen™ iBright™ FL1500 Imaging Systemで画像撮影。

(B) 4EBP1: Invitrogen™ Novex™ 16% Tricine mini ゲルにA431ライセートをそれぞれ10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078 µg/レーン添加。4EBP1一次抗体(1:1,000)、Goat anti-mouse-HRP 二次抗体(1:175,000)の条件で抗体反応。検出にはSuperSignal West Duraを使用。iBright FL1500 で画像撮影。



| 製品名                                  | サイズ     | 製品番号     | 価格       |
|--------------------------------------|---------|----------|----------|
| iBlot 3 Western Blot Transfer Device | 1 台     | IB31001  | ¥386,000 |
| iBlot 3 Starter Kit, NC              | 1 キット   | IB31001S | ¥398,000 |
| iBlot 3 Starter Kit, PVDF            | 1 キット   | IB31002S | ¥400,000 |
| iBlot 3 Transfer Stacks, Midi NC     | 10 スタック | IB33001  | ¥34,600  |
| iBlot 3 Transfer Stacks, Mini NC     | 10 スタック | IB33002  | ¥27,100  |
| iBlot 3 Transfer Stacks, Midi PVDF   | 10 スタック | IB34001  | ¥36,900  |
| iBlot 3 Transfer Stacks, Mini PVDF   | 10 スタック | IB34002  | ¥30,100  |

## ヒト末梢血の免疫細胞のサブクラスをAttune NxT Flow Cytometerで解析

長崎 謙 氏 (岡山大学学術研究院医歯薬学域・腫瘍微小環境学分野 助教)

### ご研究の概要を教えてください。

私たちの研究室では腫瘍微小環境の中でも特に腫瘍浸潤リンパ球(TIL)にフォーカスを当てた解析を行い、がん免疫のメカニズムを解明する研究を進めています。具体的には、マウスやヒトの臨床検体を用いてTILを多重染色してフローサイトメーターで解析を行い、その細胞の特性や機能、腫瘍を攻撃するかどうか(腫瘍特異性)などを評価しています。

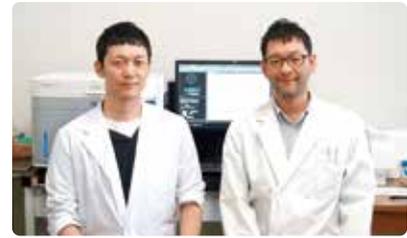
### 応募のきっかけを教えてください。

TILの解析には生存率の観点から迅速さが求められる反面、抽出したTILには多くのがん細胞が含まれており測定に時間を要し、また測定時にサンプル流路の閉塞といったトラブルが起こりやすいことが問題となっています。この機会に、Attune NxT

Flow Cytometerを私たちの実験条件で使用し、測定速度や解析結果について現在使用しているフローサイトメーターとの差異を体験する目的で応募しました。

### 使用した感想を教えてください。

TILの解析はサンプル準備の時間や手間がかかり、プログラム期間中の実施は難しいため、今回はヒト末梢血単核球を使って制御性T細胞や疲弊CD8陽性T細胞を分離したり、GFPを発現させたマウス培養細胞等を解析したりすることで検証しました。実験は、現在使用中のフローサイトメーターと同じパネル構成で行い、4レーザー搭載のAttune NxT Flow Cytometerで主に10-12色のサンプルを解析しました。その結果、これまでのデータと比較して解析精度等に遜色ないことを確認しま



長崎氏(左)と同じ研究室の助教の上田優輝氏(右)

した(図参照)。操作性に関しては、現機器と類似性があり、戸惑うことなく使えました。この機種の特長は、スタートアップとシャットダウンに時間がかからないこと、特に終了時のクリーンアップが自動でシース/廃液タンクが小さいため液の追加や廃液の処理も簡単で楽でした。軽いフットワークで使えるので、実験の各ステップの状況を素早く把握するときなどに役立ちそうです。また液詰まりがしにくい構造なので、TILの実験では現機種のバックアップにも使えそうです。

### 今後の研究について教えてください。

現在、多種のがんにおいて腫瘍微小環境にフォーカスを当てた研究を進めています。シングルセルシーケンスを用いた詳細と*in vitro*での機能解析を並行して行うことで腫瘍特異性があるT細胞を同定し、さらにフローサイトメーターを用いて臨床検体を解析することでその臨床的意義を検証しています。この研究を基に、がん免疫の作用機序や臨床応用につないでいきたいと思っています。

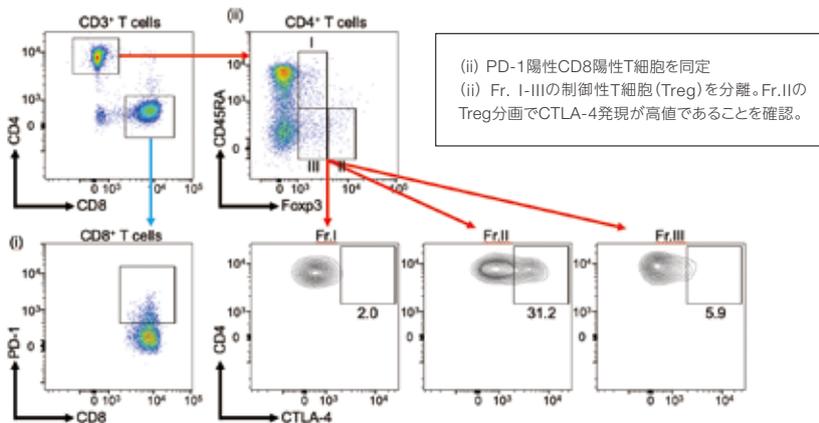


図 ヒト末梢血単核球の解析

ヒト末梢血単核球を蛍光標識抗体を用いて細胞表面および細胞内の分子を染色し、Attune NxT Flow Cytometerで解析。

## Attune CytPix Flow Cytometer

## 高速カメラ搭載の革新的なマルチカラーフローサイトメーター

Invitrogen™ Attune™ Flow Cytometerの最新モデル、Invitrogen™ Attune™ CytPix™ Flow Cytometerは、ハイスピードカメラを搭載し、蛍光シグナルと明視野画像を同時に取得できる優れたフローサイトメーターです。



- 最大1,000 µL/minの高いサンプル処理能力
- 最大6,000 images/secで明視野画像を取得可能
- ハイスループットでも一貫した画像品質

- ※1 他にblue/red、blue/violet、blue/violet 6 レーザーの組み合わせもあります。
- ※2 他にblue/red/violet、blue/red/violet 6 レーザーの組み合わせもあります。
- ※3 他にblue/red/violet 6/yellow レーザーの組み合わせもあります。

| 製品名                                                          | サイズ | 製品番号      | 価格          |
|--------------------------------------------------------------|-----|-----------|-------------|
| Attune CytPix Flow Cytometer, blue/yellow(1年保証)*1            | 1 式 | A48661-S1 | ¥14,000,000 |
| Attune CytPix Flow Cytometer, blue/red/yellow(1年保証)*2        | 1 式 | A48655-S1 | ¥19,700,000 |
| Attune CytPix Flow Cytometer, blue/violet/yellow(1年保証)       | 1 式 | A48656-S1 | ¥18,700,000 |
| Attune CytPix Flow Cytometer, blue/red/violet/yellow(1年保証)*3 | 1 式 | A48652-S1 | ¥23,700,000 |

# QuantStudio Absolute Q デジタルPCR システムを用いたAAVゲノム力価測定

## 要旨

組換えアデノ随伴ウイルス(rAAV)のゲノム力価を、Applied Biosystems™ QuantStudio™ Absolute Q™ デジタルPCR システムで測定し、正確性を検証しました。検証は、TaqMan ケミストリと熱溶解処理済みの市販のrAAV 粒子を使用していました。その結果、複数回の実験で検量線を使わずにゲノムコピー数を再現性高く定量でき、界面活性剤やHEK293の細胞ライゼートを含むバッファーを使っても正確に定量できることを確認しました。



## 背景

免疫原性が低く、かつ指向性が高いAAVは効率的で永続的な遺伝子導入が行えるため、ヒト疾患への遺伝子治療や細胞治療に広く使用されます。rAAV調製工程におけるルーチンの品質管理プロセスでは、正確、高精度、かつ再現性が高いウイルス力価測定方法が必要とされ、ゲノムコピー数(GC/mL)の定量はrAAVの特徴付けに重要です。リアルタイムPCR法は、ゲノム力価決定のゴールドスタンダード法ですが、検量線作成が必要なため実験間での検量線の値の変動に影響を受けやすくなります。一方、デジタルPCR法は、検量線を必要とせず、AAVによる遺伝子治療法開発で使用される溶液中のPCR阻害物質の影響を受けにくいという利点があります。ここでは市販の精製AAV粒子を使用して、AAVゲノムのさまざまな領域をターゲットとするマルチプレックスアッセイにより、幅広いAAV血清型にわたってゲノムコピー数を定量し、測定値の再現性を確認しました。

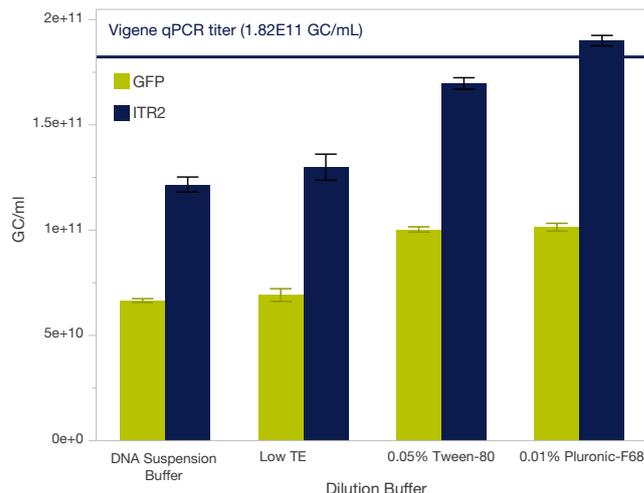
## 結果

### [AAV粒子処理方法の検討]

さまざまな希釈バッファーを使用してサンプルを調製し、デジタルPCRでカスタムGFPアッセイとAbsolute Q AAV ITR-2 アッセイでゲノム力価を測定しました(図1)。使用した市販のAAVの力価は、分析証明書に記載されていました(1.82E11 GC/mL)。アッセイの結果、ターゲットのAAVゲノムを最適に検出・定量するには、界面活性剤の添加が必要であることがわかりました。界面活性剤の存在はウイルス粒子を溶解しやすくし、ウイルス粒子が凝集して希釈チューブのプラスチック壁面に付着するのを防ぐ可能性があります。

図1 希釈バッファーと AAV粒子の処理方法

GC/mL は、QuantStudio Absolute Q デジタルPCR システムから得られた copy/uL の結果から算出し、サンプルの作成に必要な希釈係数を掛けました。1サンプルあたり、N=4。

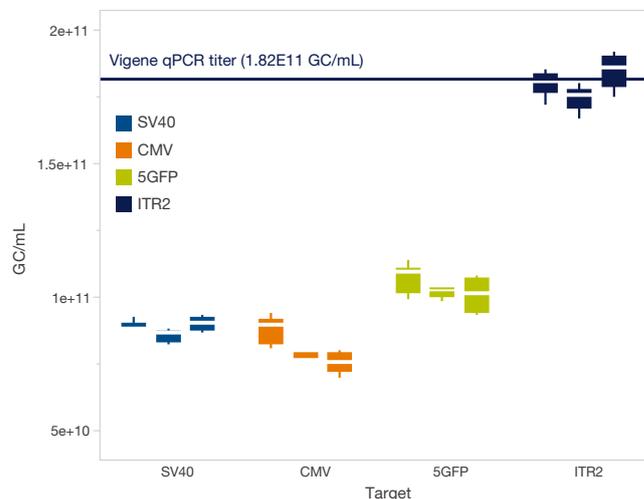


### [AAVゲノム力価の再現性]

図1の結果から、0.05% Tween-80 バッファーをその後の実験でのウイルス希釈に使用し、AAV2血清型を用いてSV40、CMV プロモーター、GFP、および ITR2をQuantStudio Absolute Q デジタルPCR システムで測定しました。その結果、再現性が高いゲノム力価が得られました(図2)。

図2 AAV2 粒子のマルチプレックス結果

AAV2 粒子の定量は、SV40 (ABY)、CMV プロモーター (JUN)、GFPの'領域 (FAM)、および ITR2 (VIC)をターゲットとする TaqManアッセイを使用して、3回の独立したランを Absolute Q デジタルPCR プラットフォームでテストしました。すべてのアッセイは、同じ デジタルPCR反応で多重化しました。すべての実験において1サンプルあたり、N=6。

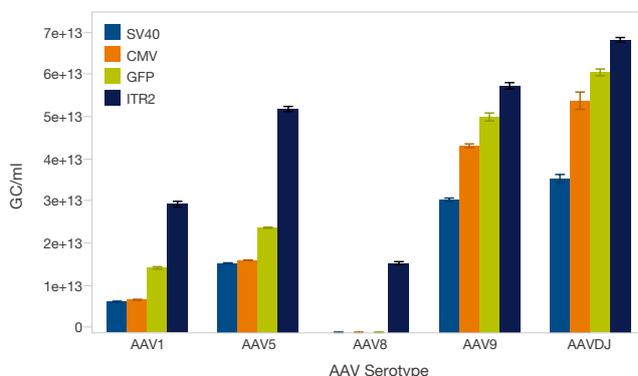


# における特性評価の検証実験

## [各AAV血清型のゲノム力価の測定]

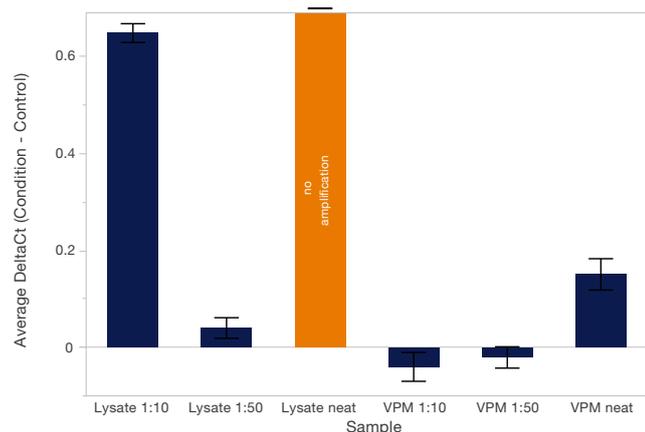
カスタムのデジタルPCR アッセイと ITR2 ウィルス力価アッセイのマルチプレックス反応を市販品 (AMSBio社: 製品番号CT002) の数種類のAAV血清型に対してテストし、Absolute Q デジタルPCR システムでの互換性を実証しました (図3)。

**図3 マルチプレックス デジタルPCR による異なるAAV 血清型のゲノム力価測定**  
SV40 (ABY)、CMV プロモーター (JUN)、GFP の5'領域 (FAM)、および ITR2 (VIC) の4つの Taqman PCR アッセイのマルチプレックスを使用して、同じゲノムプラスミドを含む市販のAAV 粒子のさまざまな血清型のゲノム力価をテストしました。すべてのサンプルで N=4。

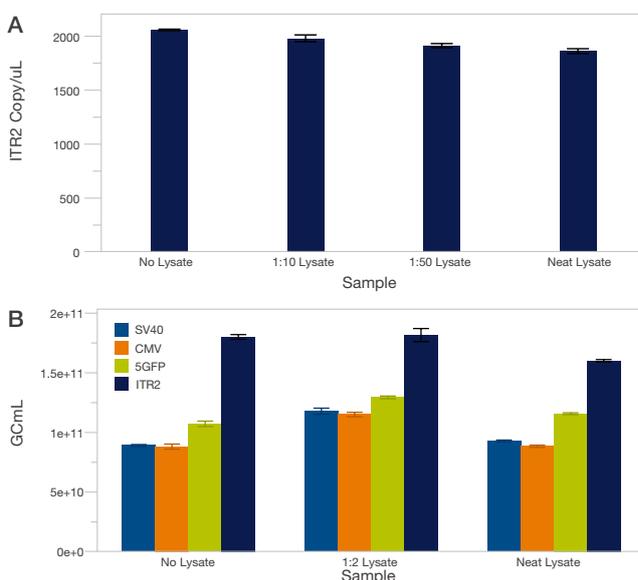


## [リアルタイムPCRとデジタルPCRに対する細胞ライセートの影響を比較]

さまざまな濃度のライセートを含むDNA コントロールをサンプルとして、リアルタイムPCRとデジタルPCRの結果を比較しました。細胞ライセートは、Gibco™ AAV-MAX Lysis Buffer (製品番号: A50520) で溶解したHEK293 細胞から回収しました。DNA コントロール (Invitrogen™ GeneArt™ DNA string製品) をさまざまな希釈の細胞ライセートまたはGibco™ Viral Production Media (以下VPM、製品番号: A4817901) にスパイクして測定しました。その結果、リアルタイムPCRでは、希釈なしのライセート (ニート) を含むサンプルにおいてPCR反応が完全に阻害され、TE バッファーで希釈したサンプルでは、Ctの変化はわずかでした (図4)。一方、デジタルPCRでDNA コントロール (図5A) と AAV2 粒子 (図5B) を細胞ライセートの存在下で検証したところ、異なる希釈のライセートを含むサンプルだけでなく希釈なしのライセートを含むサンプルでも、copy/uLの測定結果に与える影響はわずかでした。



**図4 リアルタイムPCRへの細胞ライセートの影響**  
未希釈のライセート (ニート) と、TE バッファーで1:10または1:50に希釈したライセートを、リアルタイムPCRで測定しました。同じ濃度の DNA コントロールをすべてのサンプルで測定し、平均 ΔCtは、コントロールサンプル (TE バッファーのみで希釈したDNA コントロール) を差し引いて計算しました。ITR2 アッセイをシングルプレックス でテストしました。N=4。



**図5 デジタルPCR でテストへの細胞ライセートの影響**  
A: DNAコントロールをITR2をシングルプレックスでテストしました。N=2。  
B: AAV粒子をSV40、CMV、GFP、ITR2のマルチプレックスアッセイを細胞ライセートの異なる希釈下でデジタルPCRで行いました。N=3。

## 結論

本検証実験により、リアルタイムPCRよりもシンプルで高速なワークフローを有するQuantStudio Absolute Q デジタル PCR システムは、バイオ医薬品および遺伝子治療研究に対し、下記の特長を有することを確認しました。

- ① 検量線を必要としないAAV ゲノム力価の一貫した定量結果
- ② 宿主細胞のライセートに起因するPCR 阻害への高い耐性

**References:** 1. Lock, M.; Alvira, M. R.; Chen, S. J.; Wilson, J. M. Absolute Determination of Single-Stranded and Self-Complementary Adeno-Associated Viral Vector Genome Titers by Droplet Digital PCR. *Hum. Gene Ther. Methods* 2014, 25, 115–125.

| 製品名                                               | サイズ    | 製品番号                | 希望小売価格      |
|---------------------------------------------------|--------|---------------------|-------------|
| QuantStudio Absolute Q デジタルPCRシステム デスクトップPC付パッケージ | 1 式    | QS-ABSQ-D-S1 (1年保証) | ¥10,057,000 |
|                                                   | 1 式    | QS-ABSQ-D-S2 (2年保証) | ¥10,827,000 |
| Absolute Q Viral Titer dPCR Assays - AAV          | 700 反応 | A53736              | ¥181,800    |

## AAV作製受託サービス

# アデノ随伴ウイルスベクターを安心の国内受託サービスで

AAV作製受託サービスは、高力価・高純度のアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを国内で作製する安心の受託サービスです。

高力価のアデノ随伴ウイルス (AAV) を浮遊培養系で産生する製品 Gibco™ AAV-MAX Helper Free AAV Production Systemを使って、目的のAAVを受託作製します。

使用用途に応じて、アフィニティ精製や各種分析 (定量PCR法によるTiter測定やSDS-PAGEによる評価) も行います。

作業はすべて国内ラボで実施し、進捗状況のお問い合わせにも速やかに回答いたします。

NEW!

### ▶ AAV作製試験のワークフロー



### ▶ 機能的なAAVを高純度かつ高濃度でご提供

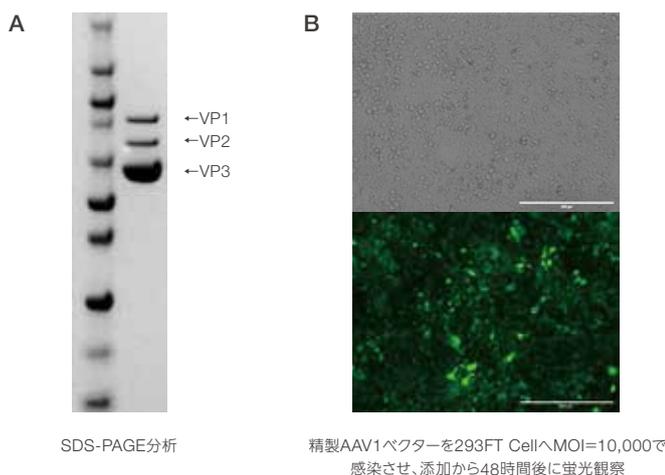


図1 AAV-MAXシステムで得られたAAV1ベクターの分析  
GFPを搭載するAAV1クルードライゼートから、Thermo Scientific™ POROS™ CaptureSelect™ AAVX Affinity Resinによるアフィニティ精製、およびろ過濃縮を実施。得られた精製AAVをSDS-PAGEおよびHEK293への感染試験に供試した結果、AAVキャプシドタンパク質 (VP1, VP2, VP3) が高純度で確認され (A)、高効率で遺伝子導入できることを確認しました (B)。

### ▶ 複数の血清型 (セロタイプ) で高力価を実現

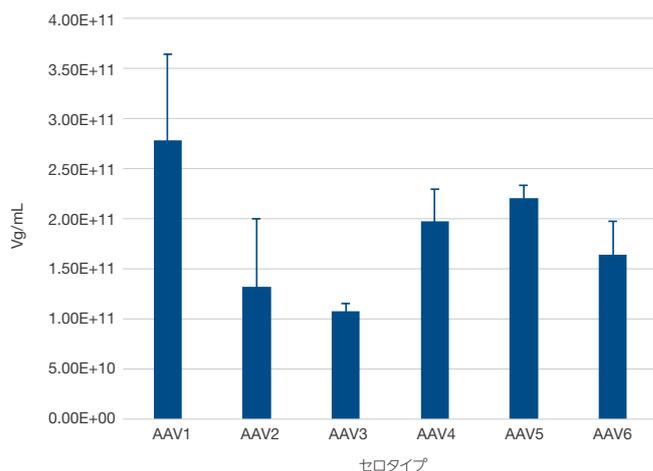


図2 AAV-MAX システムでのAAV産生試験、クルードライゼートのTiter結果  
125 mL シェーカーフラスコを用いて 30 mL スケールで 6種類のセロタイプのAAV 産生試験を実施。データより、6種類のセロタイプすべてにおいて高Titerのウイルス産生を確認しました (未精製段階での収量)。

| 作業内容          | 希望小売価格   | 納期         | 詳細                                                      |
|---------------|----------|------------|---------------------------------------------------------|
| AAV産生 (30 mL) | ¥210,000 | 4週間*       | ご提供のプラスミド (3種) とAAV-MAXシステムを用いて、AAV溶液 (クルードライゼート) を得ます。 |
| 精製            | ¥105,000 |            | 得られたクルードライゼートのアフィニティ精製 (POROS CaptureSelect) を行います。     |
| 濃縮            | ¥30,000  | 1週間 (精製込み) | 限外ろ過法を用いて濃縮を行います。                                       |
| QC: Titer測定   | ¥30,000  | 1週間        | 定量PCR法を用いてタイター測定を行います。                                  |
| QC: SDS-PAGE  | ¥60,000  | 1週間        | タンパク質の電気泳動を行うことで、純度を見ます。                                |

\*必要量のプラスミド (各30 ug) をご提供いただける場合、納期が約2週間に短縮します。他のサービスメニューもご用意しています (3 mLスケール培養、多品種対応など)。同時に複数のAAVをご注文いただく場合はお求めやすい価格になります。また、指定プロトコルでの実験も可能です。ご要望などございましたら、お気軽にご相談ください。

受託サービスのご相談・ご注文

ご興味のある方はお気軽に、当社担当営業または販売代理店へお問い合わせください。  
もしくは受託サービス窓口へご連絡ください → [jpcustom@thermofisher.com](mailto:jpcustom@thermofisher.com)

# 目的に適した柔軟なカスタマイズで研究開発と商用製造を加速

POINT

実績豊富な高品質のGibco™ 培地および試薬をお客さまの目的に合わせてカスタマイズするサービスです。小規模なnon-cGMP製造から、大規模な cGMPグレード製造まで、サーモフィッシャーサイエンティフィックは研究・開発の段階を問わずお客さまのニーズに合わせた培地作製サービスを提供します。

## こんな時におすすめ

「培地の成分をカスタマイズしたい」

→培地の特定成分の除去、添加、濃度変更が可能です。

「培地のフォーマットを変更したい」

→ボトルからバッグへの変更などスケールアップが可能です。

「cGMP化したい」

→将来的な臨床用または商業用製造に対応します

「試験項目(Quality check: QC)を追加してほしい」

→カタログ製品では行っていない任意のテストを追加できます。



## 多様なニーズに対応

用途やサイズに応じて、cGMP製造またはnon-cGMP製造(Rapid Prototyping Service)のカスタム培地を選べます。

| 製造グレード   | 培地形態 | QCテスト CoA | QC項目                                                                | 受注可能量          | 納品形態                                                                                                                       | 代表例                                                                                                             |
|----------|------|-----------|---------------------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| non-cGMP | 液体   | なし        | 有料オプションで実施可能<br>● pH<br>● Osmolality<br>● Sterility<br>● Endotoxin  | 1 L~200 L      | ボトル: 100 mL/500 mL/1 L<br>バッグ: 1 L/5 L/10 L/20 L/50 L/100 L/200 L                                                          | 製品: Gibco™ Advanced DMEM/F-12 (組成変更)<br>参考納期 <sup>※1</sup> : 2~3カ月<br>参考価格 <sup>※2</sup> : 5万円~/1 L (30 L注文の場合) |
|          | 粉末   |           |                                                                     | 1 kg~10 kg     | 1 kg/2 kg/5 kg                                                                                                             | 製品: IMDM (組成変更・粉末バルク化)<br>参考納期: 2~3カ月<br>参考価格: 16万円~/1 kg (5 kg注文の場合)                                           |
|          | AGT  |           |                                                                     | 1 kg~8 kg      | 受注量に応じて相談                                                                                                                  | 製品: Gibco™ FreeStyle™ 293 Expression Medium (AGT化)<br>参考納期: 5~6カ月<br>参考価格: 23万円~/1 kg (1 kg注文の場合)               |
| cGMP     | 液体   | あり        | 標準項目<br>● pH<br>● Osmolality<br>● Sterilityその他、カタログ品に準じる項目を追加可能(有料) | 10 L~2,500 L   | ボトル: 100 mL/500 mL/1 L<br>バッグ: 1 L/5 L/10 L/20 L/50 L/100 L/200 L (200 L以上はご相談ください: 500 L/1,000 L)<br>※標準はUniversal bagを使用 | 製品: Gibco™ CTS™ DPBS w/o Calcium, Magnesium (1 L/バッグ充填)<br>参考納期: 3~12カ月<br>参考価格: 6万円~/1 L (50 L注文の場合)           |
|          | 粉末   |           |                                                                     | 1 kg~3,500 kg  | 1 kg/2 kg/5 kg/10 kg                                                                                                       | 製品: DMEM+GlutaMAX™ -I (粉末バルク化)<br>参考納期: 3~12カ月<br>参考価格: 9万円~/1 kg (20 kg注文の場合)                                  |
|          | AGT  |           |                                                                     | 50 kg~6,000 kg | 受注量に応じて相談                                                                                                                  | ご相談ください                                                                                                         |

見積もり期間: お見積りはUS本社へ問い合わせとなります。ご依頼から約1~2週間でご案内いたします。

※1: 状況により、前後する可能性があります(正式な納期はご注文時のご案内となります)。

※2: 仕様によって増減することがあります。



カスタム培地に関する見積もりのご依頼は当社営業担当者または販売代理店までお知らせください。また、下記URLのウェブページにあるお問い合わせフォームからお受けしております。



# より信頼性の高いPCR結果をサポート



POINT

本サービスは、当社認定のフィールドサービスエンジニアが訪問し、専用の温度測定ツールでサーマルサイクラーの温度を実測して、その精度を検証するサービスです。測定ツールは国際標準である National Institute of Standard and Technology (NIST) に対してトレーサブルとなるよう外部機関にて定期的に校正されており、測定結果は高い信頼性を保持します。

- Multiplex Dynamic Temperature Verification (MDTV) システムで最大5台の同時検証
- 検証作業は、多くの場合1時間。機器の長期停止は不要
- MDTVソフトウェアの自動分析により、詳細かつ明確な結果レポートを発行。レポートには測定ツールの校正証明書や作業者認定証も添付され、信頼性の高い報告書を提出

## ▶ 第三者認定取得への対応

サーマルサイクラー (PCRシステム) の役割が、基礎研究だけでなく臨床研究や病原体検査においても広がるにつれ、求められる性能水準は高まっており、性能の要である温度精度を定期的に検証することは非常に重要です。当社サーマルサイクラー温度検証サービスは、下記のような第三者認定取得にも活用できます。



### ISO 17025

試験所および校正機関の能力に関する一般要求事項

A2. -設備の妥当性確認および性能の検証に関する指針-

設備の種類:サーマルサイクラー  
要求事項:温度および時間の監視  
示唆される頻度:1年ごと

出典:JAB RL358:2017「認定の基準」についての指針  
-分子生物学的試験-

### ISO 15189

臨床検査室の品質と能力に関する特定要求事項

5.3.1.4 機材の校正および計量計測トレーサビリティ

検査室は、検査結果に直接または間接的に影響を及ぼす機材の校正に関する文書化された手順を有していること。手順は以下を含む:  
c) 定義された間隔での、要求されている測定の精確さ、測定システムの機能を検証する。

出典:JAB RFM35-REV.4 申請用チェックリスト  
(ISO 15189:2012 用 JAB仮訳)

### CAP-LAP

米国病理医学会 (CAP) による臨床検査室の認定基準

MOL.49520 Thermocycler Temperature Checks

Individual wells (or a representative sample thereof) of thermocyclers are checked for temperature accuracy before being placed in service and at least annually thereafter.

出典: Molecular Pathology Checklist. CAP Accreditation Program 2018. College of American Pathologists.

## ▶ サービス対象モデル

下記モデルを対象にサービスを実施しています。記載がないモデルについてはお問い合わせください。

|                                             |                                          |
|---------------------------------------------|------------------------------------------|
| Applied Biosystems™ ProFlex™ PCRシステム        | Applied Biosystems™ VeritiPro™ サーマルサイクラー |
| Applied Biosystems™ Veriti™ サーマルサイクラー       | Applied Biosystems™ SimpliAmp™ サーマルサイクラー |
| Applied Biosystems™ MiniAmp™ Plus サーマルサイクラー | Applied Biosystems™ MiniAmp™ サーマルサイクラー   |

| 製品名            | ブロックタイプ                               | 製品番号     | 希望小売価格   | 1年修理保証付希望小売価格 |
|----------------|---------------------------------------|----------|----------|---------------|
| 温度検証サービス       | 96 well, 384 well, 3×32 well, 60 well | 4483074  | ¥193,000 | ¥236,000      |
|                | 2×96 well, 2×384 well, 2×Flat well    | 4485439  | ¥263,000 | ¥306,000      |
| 温度検証サービス追加ブロック | 96 well, 384 well, 3×32 well          | A26370JP | ¥83,000  | -             |
|                | 2×96 well, 2×384 well, 2×Flat well    | A26369JP | ¥153,000 | -             |

\*追加ブロックは、ブロックが交換可能なProFlex PCRシステムが対象です。60 wellは手動測定となります。1年修理保証は、サービス作業日から1年間となります。当社規定の約款にご同意の上お申し込みください。

# 最新の動物衛生ソリューションを提供

今日、動物衛生モニタリングのスペック向上は重要な課題であり、特定感染症を早期に確度高く同定することで感染症対策を的確かつ迅速に講じることができます。サーモフィッシャーサイエンティフィックは、最新検査を整え、ウシ、ブタ、トリなどの生産動物に適したソリューションを提供しています。動植物サンプル由来の核酸精製、qPCR、ELISAなどの病態に適したソリューションなど、信頼できるケミストリ、柔軟なプラットフォーム、政府認可の検査ソリューションなど、市場のニーズを満たす優れたソリューションです。



## VetMAX MastiType Kit

### ウシ乳房炎検査を迅速かつ簡単に実施

ウシ乳房炎は重大な損失を引き起こす可能性があるため、農業関係者は迅速な検査結果を必要とします。

従来の乳房炎感染検査には培養作業が含まれ、結果を得るまでに時間がかかりました。

Applied Biosystems™ VetMAX™ MastiType multiplex qPCR キットは、マイコプラズマ属菌を含め1日で結果を提出します。



- より迅速な結果: サンプルから結果までの標準的な時間は2.5–3時間
- 潜在性乳房炎でも検出可能
- 細菌培養が不要
- 高精度: すべての個々の病原体に対して高い感度と特異性を実現

### 🔍 キットの特長と検出可能な微生物

#### VetMAX MastiType Micro4 Kit

特に重要な微生物検出に特化したキット

#### VetMAX MastiType Myco8 Kit

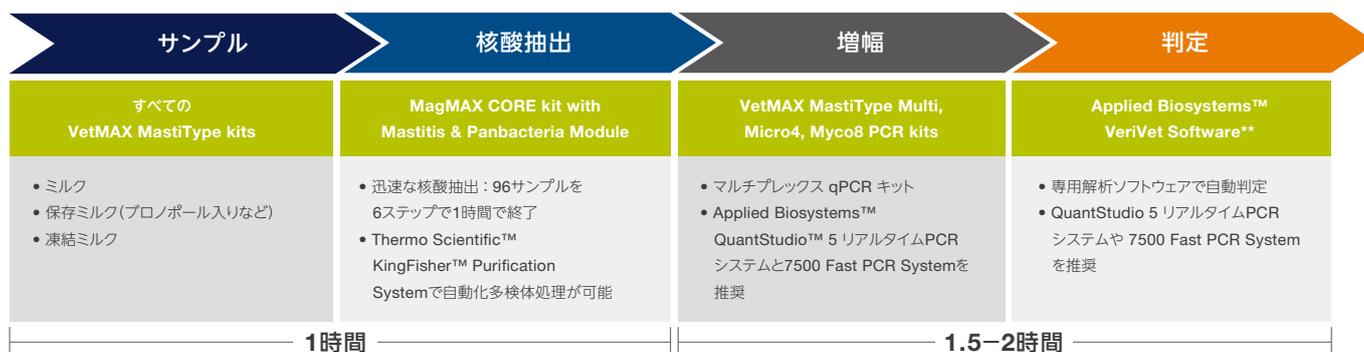
マイコプラズマ検出に特化したキット

#### VetMAX MastiType Multi Kit

乳房炎関連微生物を網羅的に検出するためのキット

| VetMAX MastiType Multi Kit identifies                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | VetMAX MastiType Myco8 Kit identifies                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | VetMAX MastiType Micro4 Kit identifies                                                                                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>• <i>Staphylococcus</i> spp. (including all major coagulase-negative staphylococci)</li> <li>• <i>Streptococcus a galactiae</i></li> <li>• <i>Streptococcus dysgalactiae</i></li> <li>• <i>Streptococcus uberis</i></li> <li>• <i>Escherichia coli</i></li> <li>• <i>Enterococcus</i> spp. (including <i>E. faecalis</i> and <i>E. faecium</i>)</li> <li>• <i>Klebsiella oxytoca</i> (and/or <i>K. pneumoniae</i>)</li> <li>• <i>Serratia marcescens</i></li> <li>• <i>Corynebacterium bovis</i></li> <li>• <i>Trueperella pyogenes</i> and/or <i>Peptoniphilus indolicus</i></li> <li>• <i>Staphylococcal</i> β-lactamase gene (penicillin-resistance gene)</li> <li>• <i>Mycoplasma bovis</i></li> <li>• <i>Mycoplasma</i> spp.</li> <li>• <i>Yeast</i></li> <li>• <i>Prototheca</i> spp.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Mycoplasma</i> spp.</li> <li>• <i>Mycoplasma alkalescens</i></li> <li>• <i>Mycoplasma bovis</i></li> <li>• <i>Mycoplasma bovigenitalium</i></li> <li>• <i>Mycoplasma canadense</i></li> <li>• <i>Mycoplasma californicum</i></li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>• <i>Streptococcus agalactiae</i></li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Mycoplasma bovis</i></li> <li>• <i>Staphylococcus aureus</i></li> <li>• <i>Streptococcus agalactiae</i></li> <li>• <i>Streptococcus uberis</i></li> </ul> |

### 🔍 ワークフロー



| 製品名                          | サイズ     | 製品番号   | 価格       |
|------------------------------|---------|--------|----------|
| VetMAX MastiType Micro4 Kit* | 100 テスト | A39235 | ¥257,100 |
| VetMAX MastiType Myco8 Kit*  | 100 テスト | A39236 | ¥291,100 |
| VetMAX MastiType Multi Kit*  | 100 テスト | A39227 | ¥308,100 |

\*核酸精製キットとセットになったCombi Kitも提供しています。

# 「第22回日本再生医療学会総会」 展示ブースレポート

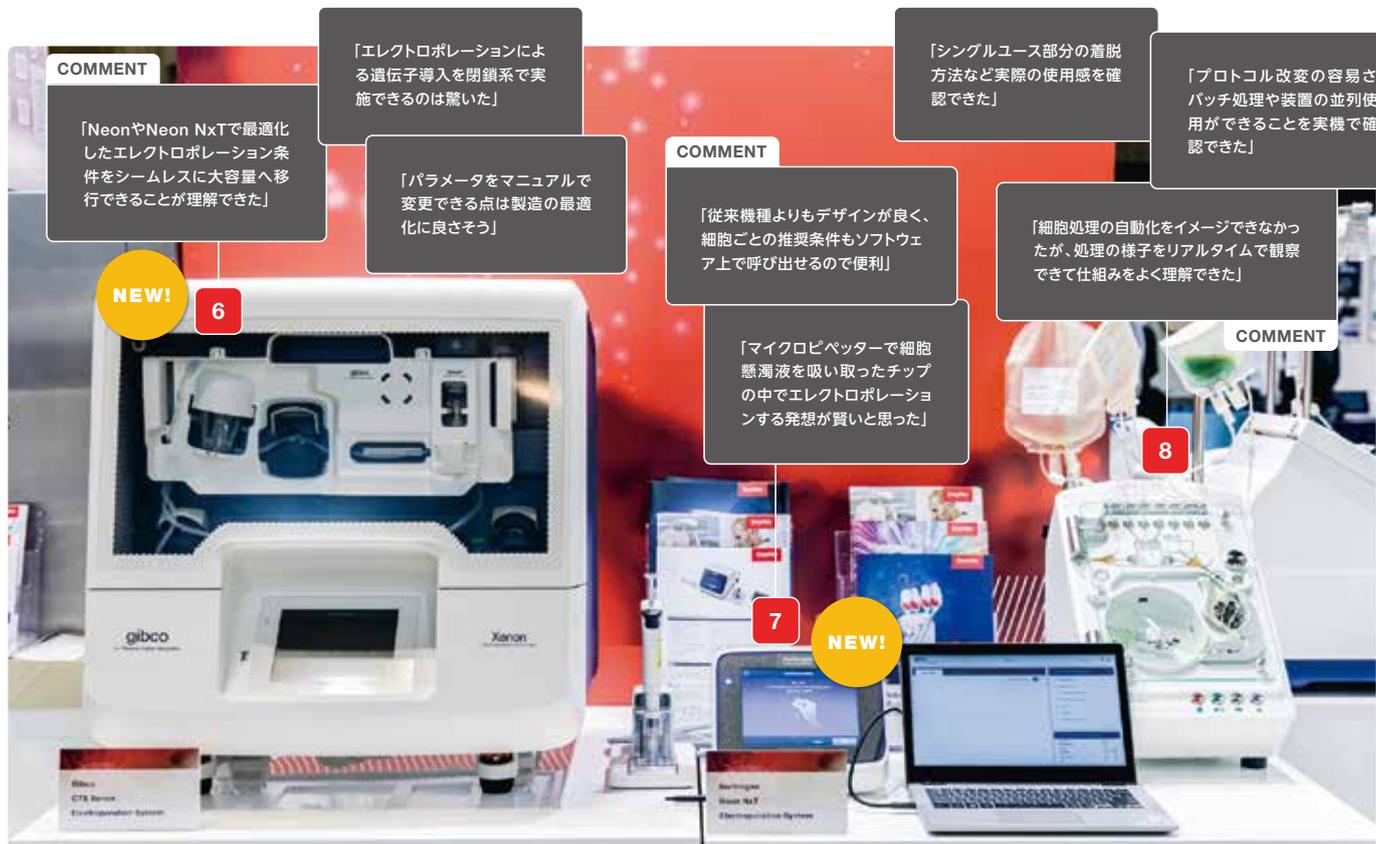
第22回日本再生医療学会総会の展示会場にて、「細胞医療へのトータルソリューション」をテーマにブース出展しました。再生医療の基盤技術を支える最新機器を展示し、多くの学会参加者の方々にご覧いただきました。ここでは展示ブースとコメントの一部を紹介いたします。今回の展示製品は、昨年10月に東京本社に開設したT-CEL (Thermo Fisher Scientific Creative Experience Lab for regenerative medicine) でも、随時ご覧いただけます。T-CELでは再生医療のアプリケーションやワークフローに沿って関連機器を展示し、セミナーやトレーニングも開催中です。学会の展示ブースにお越しいただいた方からも、「T-CELをぜひ訪問したい。製造装置類を一度にたくさん触れる機会は滅多にないため、とても役立ちそう」「ワークフローで理解できる点が良い。新メンバーの教育の機会としてもT-CELを活用したい」とのコメントをいただいています。お申し込みは下記URLより受け付けています。

T-CELの見学やセミナー／ハンズオントレーニングのご予約は → [thermofisher.com/jp-tcel](https://thermofisher.com/jp-tcel)



## 【閉鎖系自動細胞分離システム／拡大培養／ウイルス精製／安全性評価】

- 1 Gibco™ CTS™ DynaCelect™ 閉鎖系自動細胞分離システム**  
磁気ビーズ (Dynabeads) を用いてT細胞を分離し、細胞活性化後のビーズ除去まで自動化可能なシステムです。閉鎖系なので、CAR-T細胞などの製造プロセスに推奨します。
- 2 Gibco™ CTS™ Dynabeads™ CD3/CD28**  
フィーダー細胞 (抗原提示細胞) または抗原を必要とせず、T細胞の活性化および増殖を簡便に行うための磁気ビーズです。
- 3 Gibco™ CTS™ OpTmizer™ Pro SFM**  
同種他家細胞療法で使用されるヒトTリンパ球 (CD4+、CD8+、ポリクローナル、抗原特異的など) の増殖・拡大用に開発された無血清培地 (SFM) です。
- 4 Thermo Scientific™ POROS™ AAVX Affinity Resin**  
遺伝子治療に使用される広範な天然および合成アデノ随伴ウイルス (AAV) セロタイプの精製用のアフィニティレジンです。
- 5 Applied Biosystems™ MycoSEQ™ マイコプラズマ検出システム & Applied Biosystems™ QuantStudio™ 5 リアルタイムPCRシステム**  
リアルタイムPCRベースのマイコプラズマ検出の完全統合型ソリューションです。40種類以上のマイコプラズマの検出データを5時間以内に提供します。



COMMENT

「NeonやNeon NxTで最適化したエレクトロポレーション条件をシームレスに大容量へ移行できることが理解できた」

「エレクトロポレーションによる遺伝子導入を閉鎖系で実施できるのは驚いた」

「パラメータをマニュアルで変更できる点は製造の最適化に良さそう」

COMMENT

「従来機種よりもデザインが良く、細胞ごとの推奨条件もソフトウェア上で呼び出せるので便利」

「シングルユース部分の着脱方法など実際の使用感を確認できた」

「プロトコル変更の容易さ、バッチ処理や装置の並列使用ができることを実機で確認できた」

「細胞処理の自動化をイメージできなかったが、処理の様子をリアルタイムで観察できて仕組みをよく理解できた」

COMMENT

「マイクロピペッターで細胞懸濁液を吸い取ったチップの中でエレクトロポレーションする発想が賢いと思った」

## 【閉鎖系自動細胞処理システム(洗浄・濃縮) / 閉鎖系エレクトロポレーションシステム】

- 6** **Gibco™ CTS™ Xenon 閉鎖系エレクトロポレーションシステム**  
細胞治療開発や製造のための閉鎖系大容量エレクトロポレーションシステムです。CAR遺伝子の導入などにおいて、細胞の生存率や回収率にほとんど影響せず、迅速・効率的にトランスフェクションできます。
- 7** **Invitrogen™ Neon™ NxT エレクトロポレーションシステム**  
リポフェクションによる遺伝子導入が難しい細胞株でも、特許取得済のエレクトロポレーションチップ技術により、高い導入効率と生存率を実現します。
- 8** **Gibco™ CTS™ Rotea 閉鎖系カウンターフロー遠心システム**  
細胞治療製品の開発および製造用システムです。カウンターフロー・遠心分離法により、CAR-T細胞療法や幹細胞療法、PBMC分離などの幅広い細胞処理アプリケーションに対応します。

## 【細胞培養・分離 / ラボデザイン】

- 9** **Thermo Scientific™ Sorvall™ X4RF Pro ハイパフォーマンスユニバーサル遠心機**  
大容量・ハイスループットが特長。ユーザーログやランログの管理が可能です。
- 10** **Thermo Scientific™ Forma™ Steri-Cycle™ i160 CR CTS CO<sub>2</sub>インキュベーター**  
ISO Class 5およびGMP Grade A/Bのクリーンルームに適合したCO<sub>2</sub>インキュベーターです。汚染のリスクを抑え、クリーンな細胞培養環境を提供します。
- 11** **Thermo Scientific™ MaxQ™ 2000 CO<sub>2</sub> Plusオービタルシェーカー**  
高湿度な環境下で使用可能な耐湿型シェーカー。浮遊培養細胞の培養に便利です。

「全血から多血小板血漿 (PRP) を抽出するため、ポケットにキャップできるので安全ですね」

COMMENT

「50mLコニカルチューブを多本数遠心するので、ハイスループット遠心できるので便利」

「CO<sub>2</sub>インキュベーターの中に設置できるシェーカーを探していました」

「粒子の発生を抑えた細胞加工施設用の特別なモデルなので、汚染のリスクを低くできるのが良いです」

COMMENT



## PeproTechブランドの組み換えサイトカイン、成長因子

# 35年のノウハウを蓄積し、高品質な製品を提供

### POINT

何千もの査読済み文献と数十年にわたる専門知識に裏打ちされたPeproTechの組み換えサイトカインおよびタンパク質は、最新の細胞治療や遺伝子治療法の開発を目指すライフサイエンス、バイオテクノロジー分野での成功をサポートしています。

PeproTechの組み換えサイトカインおよび成長因子は、製造プロセスの全ステップを専門的に管理され、その品質、一貫性、確実性はもとより、研究使用(RUO)からGMP移行へのサポート能力も、高い信頼性を確立しています。

2021年、PeproTechはサーモフィッシャーサイエンティフィックの一員となり、今後もGibco™ Peprotech™ ブランドとして広範な組み換えタンパク質のポートフォリオを提供いたします。

- 動物由来成分不含のサイトカインや成長因子を提供
- Gibco™ PeproGMP™ グレードのサイトカインや成長因子を提供
- RUO製品です

詳細はこちらから → [thermofisher.com/peprotech](https://thermofisher.com/peprotech)



## NEXT 6月号はいかがでしたか?

今年DNA二重らせん構造発表から70年となる記念の年。サーモフィッシャーサイエンティフィックは、DNA 70th Anniversaryとして世界中の研究者とともに祝います。Anniversary 特別インタビューでは、東京工業大学の相澤康則氏にヒトゲノム構築研究の進展を伺いました。新しいゲノム時代が到来しそうです。他にもインタビュー記事や新製品情報、デジタルPCRのTechnical Reviewなどを掲載しています。再生医療学会総会の報告記事もぜひご一読ください。



NEXT読者アンケートはこちらから → [thermofisher.surveymonkey.com/r/NEXT\\_reader](https://thermofisher.surveymonkey.com/r/NEXT_reader)

photographs: megumi maeda(p.04-05) / art direction & design: opportune design inc. / editing: yuko hashimoto

## NEXT バックナンバーは、こちらから → [thermofisher.com/NEXT](https://thermofisher.com/NEXT)

研究用にも使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2023 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc., used under permission and license.

記載の価格は2023年6月現在のメーカー希望小売価格です。消費税は含まれておりません。●実際の販売価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

●価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。●標準販売条件はこちらをご覧ください。 [thermofisher.com/jp-tc](https://thermofisher.com/jp-tc) LSG121-A2306HS

サーモフィッシャーサイエンティフィック  
ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com)  
オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX: 03-6832-9584  
営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX: 03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://facebook.com/ThermoFisherJapan) [@thermofisherjp](https://twitter.com/thermofisherjp)  
[thermofisher.com](https://thermofisher.com)

販売店