

ES細胞：
Non-RI高感度なDELFLIAを分化マーカーとして用いる

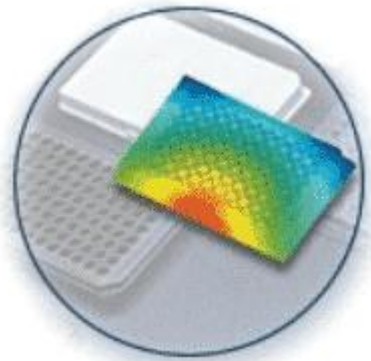
ホルモン定量キットアプリケーション

研究用試薬

近年の胚性幹(ES)細胞・iPS細胞研究の目覚ましい進展により、目的組織細胞への分化誘導を正確に制御する技術が確立されてきました。この中において、下垂体後葉細胞への分化技術の確立(1)と甲状腺細胞(2, 3)への分化技術の確立がなされてきました。また、ゴナドトロピン様細胞の分化技術の開発(4)などから、今後数多くのホルモン分泌細胞への分化技術が確立され、将来的には臨床への応用が期待されます。これら内分泌器官細胞への分化技術の確立は、下垂体前葉の各ホルモン分泌細胞への分化技術の開発に結びつくものと期待され、これら器官機能低下に伴うホルモン分泌異常疾患の治療に光明を見出すものとなります。分化後の下垂体前葉細胞から分泌されるホルモンはハイスループットな分化マーカーとして役立ち、従来の形態、遺伝子発現を中心とした分化アッセイからより効率的な実験条件の検討を可能とします。

PerkinElmerでは、従来のRIA、ELISAに替え、高感度Non-RIホルモンアッセイ試薬として、DELFLIAホル

モン定量キットを、ES細胞・iPS細胞の分化マーカー検出試薬としてハイスループットアッセイを行うことを提案いたします。DELFLIAが持つ感度と安定性は、これら研究の発展に貢献します。スクリーニングの選択肢の幅を広め、高感度検出を簡便に行い、細胞ポピュレーション内の数少ない分化細胞を見落とさずに、Next stepへの足がかりを得るチャンスを提供します。



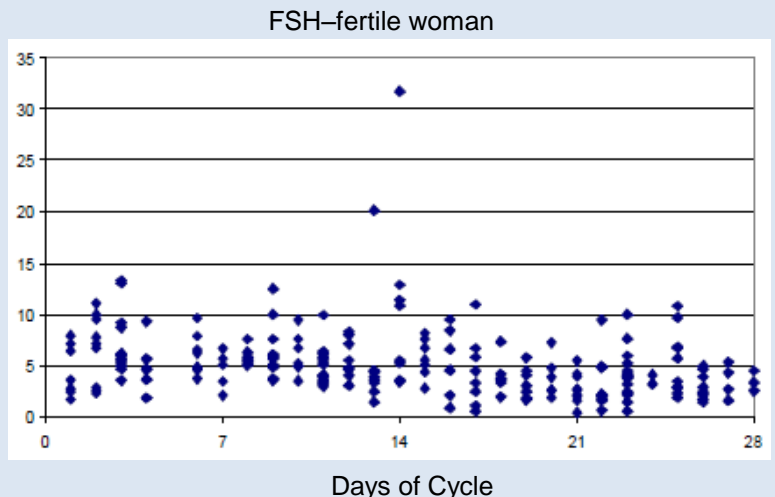
- 1) Wataya et al., PNAS 2008, 105, 11796–11801 2) Lin et al., Endocrinol. 2003, 144, 2644–2649 3) Arufe et al., Endocrinol. 2006, 147, 3007–3015 4) Zhao et al., J. Soc. Gynecol. Invest. 2005, 12, 257 - 262.

ホルモン	カタログ番号	DELFLIAホルモンキット	アッセイレンジ*
卵胞刺激ホルモン (FSH)	R017-201	DELFLIA hFSH Reagent	0.05 - 256 U/L
黄体形成ホルモン (LH)	R031-101	DELFLIA hLH Reagents	0.05 - 250 U/L
プロラクチン (PRL)	R018-301	DELFLIA Prolactin (hPRL) Reagents	0.04 - 250 ng/mL
成長ホルモン (GH)	R041-101	DELFLIA hGH Reagents	0.03 - 10,000 mU/L
甲状腺刺激ホルモン(TSH)	R042-201	DELFLIA hTSH Ultra Reagents	0.005 – 100 mU/mL

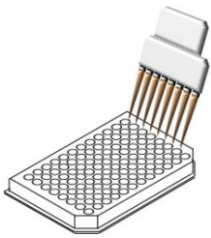
*ヒト血清中のホルモン量を定量した場合

優れた安定性と再現性を実現

マニュアル操作キットのアッセイ結果を、全自動化DELFLIA装置AutoDELFLIAを用いたアッセイと比較した場合、それぞれのデータの相関係数Rは0.999と高い相関性を示し、優れた再現性を有することが示されています。(Estradiolキットの場合)血清希釈系列を用いてアッセイを行い、原液となった血清のFSH濃度を算出した場合、結果の平均値は107% (n=8) となり、血清成分の濃度の影響は最小限にとどまることが示されています。



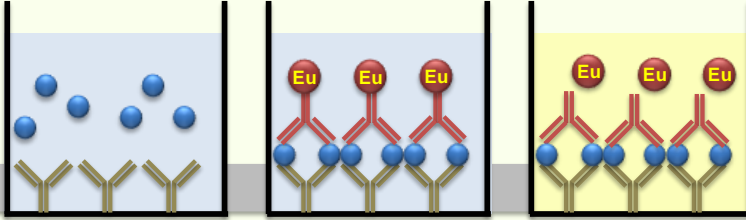
月経周期における血清FSH量の変動



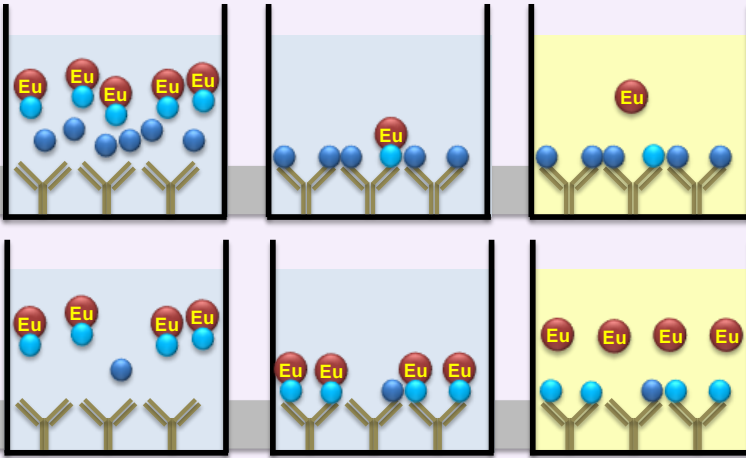
DELFLIAホルモンアッセイの測定原理

時間分解蛍光（TRF）を用いた優れたアプリケーションであるDELFLIAには、2つの抗体を用いるサンドイッチ法と、1つの抗体とEu標識リガンドを用いる競合法があります。いずれの方法でも、抗体をコーティングした96ウェルプレートに直接または希釈済みサンプルを添加することでアッセイを開始します。

サンドイッチ法：2つの抗体を用いてアナライトを検出します。



競合法：1つの抗体とEu標識リガンドを用いて検出します。



サンドイッチ法では検出対象化合物の量に応じて蛍光シグナルは高くなります。競合法では検出対象化合物濃度の上昇に伴い、蛍光シグナルは低下します。

二次抗体または標識リガンドに結合したEuは、増強試薬により抗体またはリガンドから遊離し、キレート錯体を形成し、強い蛍光を長時間持続する蛍光物質となります。

蛍光が長時間持続するDELFLIAでは、自家蛍光などによるバックグラウンド値が非常に低いため、通常のELISAのような簡便な操作で、RIAに匹敵する高感度なアッセイが可能です。



マルチプレートリーダー：
ARVO



マルチプレートリーダー：
EnVision

DELFLIA測定が可能なマルチプレートリーダー：EnVision、ARVO

DELFLIAホルモンキットを始めとした、DELFLIA（時間分解蛍光アッセイ）を測定するためには、時間分解蛍光測定が可能なマルチプレートリーダーが必要です。

PerkinElmerは、時間分解蛍光のパイオニアとして、力強いハードウェアを提供し、高感度且つ安定したアッ

セイを可能にするマルチプレートリーダーを提供しています。

また、各プレートリーダーに付属する解析ソフトウェア解析ソフトウェアでは、容易なプロトコル作成、解析結果のエクセル・ワードへの出力が可能です。

DELFLIA ホルモン定量キットシリーズ

R007-101 DELFLIA hCG Reagents	R030-101 DELFLIA T4 Reagents	R056-101 DELFLIA Estradiol Reagents
R017-201 DELFLIA hFSH Reagent	R042-201 DELFLIA hTSH Ultra Reagents	R066-101 DELFLIA Progesterone Reagents
R018-301 DELFLIA Prolactin (hPRL) Reagents	R041-101 DELFLIA hGH Reagents	R070-101 DELFLIA SHBG Reagents
R029-101 DELFLIA T3 Reagents	R050-201 DELFLIA Testosterone Reagents	R031-101 DELFLIA hLH Reagents

株式会社 パーキンエルマー ジャパン ジェネティックスクリーニング事業部 www.perkinelmer.co.jp

横浜本社 〒240-0005 横浜市保土ヶ谷区神戸町134 横浜ビジネスパーク テクニカルセンター 4F
TEL: 045-339-5883 FAX: 045-339-5872