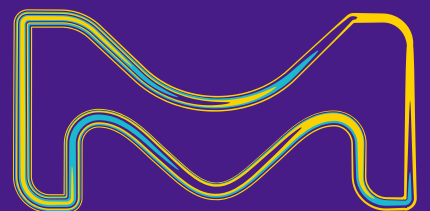


**COVID-19 感染症への対応
ウイルス研究
およびワクチンや
治療薬開発の促進**



COVID-19 感染症蔓延： 現状と公衆衛生におよぼす影響の継続的進展

ライフサイエンス分野を支援する世界的企業として、COVID-19 感染症に関連する様々なご要望にお応えします。弊社では、ウイルスの検出や特性試験に使用する原材料や研究用製品から製造まで、COVID-19 感染症対応に関連する活動を支援しており、研究者や開発・製造担当者が必要とする製品およびサービスを確実に提供します。

Topic	Page
ウイルス検出	4
ウイルス特性	9
ワクチン開発	23
治療薬開発	28

ウイルス検出

PCR 増幅

Transcriptor One-Step RT-PCR Kit

Transcriptor One-Step RT-PCR Kit は、Taq DNA ポリメラーゼとブルーフリーディングポリメラーゼを含む混合酵素試薬を使用し、ホットスタートプロトコールによる逆転写反応で PCR 産物を特異的かつ確実に産生します。製品には、テンプレートとプライマー以外のワンステップ RT-PCR に必要な全ての試薬が含まれています。

Titan™ One Tube RT-PCR System

Titan™ One Tube RT-PCR System では、1st strand cDNA 合成用の AMV 逆転写酵素と、PCR 反応により cDNA を増幅する Expand™ High Fidelity 酵素 2 種類 (Taq DNA ポリメラーゼとブルーフリーディングポリメラーゼ) を混合した、3 酵素混合試薬を使用しています。

Quantitative RT-PCR ReadyMix™

Quantitative RT-PCR ReadyMix™ は、cDNA 合成用の Moloney マウス白血病ウイルス逆転写酵素 (M-MLVRT) に加え、JumpStart Taq ポリメラーゼ、純度 99% のデオキシヌクレオチド、バッファー、および安定化剤が混合調製されているため、操作が簡便です。混合試薬は 2 倍濃縮調製液として出荷されます。

カタログ番号 製品名

TOSRTRO	Transcriptor One-Step RT-PCR Kit
11855476001	Titan™ One Tube RT-PCR System
QR0200	Quantitative RT-PCR ReadyMix™
W4502	Nuclease-Free Water, Molecular Grade

プライマーとプローブのデザイン

COVID-19 コロナウイルスのプライマーとプローブのデザインは、ダウンロードしてご利用頂けます。詳細は弊社までお問い合わせください。

customjp.ts@merckgroup.com

我々は、今回の WHO による世界的緊急事態宣言に応じて状況を継続的に注視し、お客様と緊密に協力することにより、COVID-19 感染症に関連する様々な活動を支援していきます。

RNA 精製

ウイルス RNA ゲノムの分離精製：多くの用途に応える重要な工程

GenElute Total RNA Purification Kit

キットの特徴と仕様：

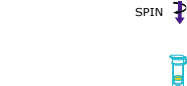
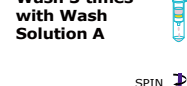
- 細胞、組織、血液、鼻腔／咽頭スワブから採取したウイルス RNA など、様々な試料から RNA を迅速に分離精製
- RNA シーケンシング、RT-PCR、qRT-PCR など、様々なダウンストリーム試験での使用に適した精製 RNA を調製
- 高速処理用の mini- サイズおよび maxi- サイズのスピncラムを用意：

RNA 分離用スピncラム*

カタログ番号	Max Binding Capacity Per Column	Max Loading Volume Per Column	Speed
RNB100 (mini)	Up to 50 µg	650 µL	20 minutes for 10 purifications
RNB200 (maxi)	1.5mg	20 mL	40 minutes for 4 purifications

* 本製品については弊社までお問い合わせください。

Lyse cells or tissue using Buffer RL



Purified Total RNA

その他の RNA 精製に関連した必需品

	用途		製品
RNaseの除去	実験機器等のクリーニング (ディコンタミネーション)	RNaseZAP™	Minimize RNase contamination R2020
RNA分解の回避	保存と保護	Stabilyser	Stabilize RNA & protein in tissue lysate PNS1010
		RNAlater™	RNA preservative at collection R0901
サンプルに重要な追加工程	精製用補助試薬	TRI Reagent™	Mixture of GTC & Phenol T9424/T3934
		On Column DNase I Digestion	Eliminate gDNA from RNA preps DNASE10/DNASE70

感染既往の確認

SARS-CoV-2 に感染しても、症状が軽度であったり無症候性の場合もあります。感染症から回復し体内からウイルスが除去されている場合、感染既往の確認は血清学的検査によってのみ可能です。抗体検査による COVID-19 感染の疫学的調査は、公衆衛生における進展状況を調べるためのもう一つの重要な研究分野です。弊社は、以下の表に示す通り、SARS-CoV-2 ウイルスに関連する抗体製品を充実させることにより、イムノアッセイ系の開発を支援してきました。

血清学的検査のためのアッセイ系開発用抗体および試薬

SARS-CoV-2 の感染無症候性患者や発症前感染のエビデンスが増えてきており、SARS-CoV-2 ウイルスのバイオマーカーや抗ウイルス抗体を用いてウイルスを検出することが重要になっています。ウイルスの高感度検出が可能になることで、ワクチンや治療薬の創薬プロセス初期における研究が効率化され、創薬期間を短縮することができます。

カタログ番号	Description
AP112P	Goat Anti-Human IgG Antibody, HRP conjugate
AP309P	Goat Anti-Human IgG (gamma) Antibody, HRP conjugate
A0295-1ML	Anti-Human IgA (α -chain-specific) HRP conjugate
AP124P	Goat Anti-Mouse IgG Antibody, HRP conjugate, H+L
AP132P	Goat Anti-Rabbit IgG Antibody, HRP conjugate
524650-1EA	PBS TABLETS (1 Tablet = 1L)
9480-1L	TWEEN 20
126593	Albumin, Bovine Serum, Fraction V, RIA and ELISA Grade
CL07	TMB (Soluble Substrate)
BR781722-100EA	BRAND® microplate BRANDplates®, immunoGrade

全バッチ間における優れた再現性： ZooMAb® リコンビナント抗体



信頼できる高品質イムノアッセイ系を開発するには、高品質の試薬を安定的に確保できるリコンビナント抗体が必要です。ポリクローナル抗体の場合は性能にバッチ間差があります。一方、ハイブリドーマで産生されるモノクローナル抗体は、ドリフトによって抗体発現が影響を受けます。さらに、従来法による抗体産生では、免疫動物や発現細胞株が維持できなくなるリスクもあります。しかし、弊社の ZooMAb® 抗体のようなリコンビナント抗体ではこれらの問題がなく、再現性に優れています。

リコンビナント抗体にはバッチ間差が殆どありません。抗体のシークエンス情報があれば、必要に応じて同じ抗体を容易に再産生することができるため、製品が欠品になるリスクはありません。

ZooMAb® 抗体製品の最新情報はこちらをご覧ください。

[SigmaAldrich.com/zoomab](https://sigmaaldrich.com/zoomab)



ホルマリン固定しパラフィン包埋 (FFPE) 処理した E16.5 マウス胚切片を熱処理 (heat-induced epitope retrieval : HIER) を用いて準備。200 倍希釈した製品番号 ZRB5603 抗 Sox-2 ZooMAb ウサギ・モノクローナル抗体 (クローン 1A2) で免疫染色。ヤギ抗ウサギ IgG と DAB を用いて反応。核染色は E16.5 マウス胚組織切片の組織タイプ・サブセットで観察。

Image ref: ZooMAb® Technical Article, MK_TN4022EN,
2019-20172, 05/2019

最新の技術を用いた新たな検出能力

低レベル発現タンパク質の特定や定量が研究目的の達成に重要な要素である場合、その特定タンパク質の検出を可能にする技術が必要になります。

SMCxPRO™ 装置を使用すれば、疾患因子として確立されたバイオマーカーの検討において、発現量が極めて低レベルであっても検出することができます。これにより、疾患の進展に伴うバイオマーカーのわずかな濃度変化をモニタリングすることが可能になります。さらに、必要とされる検体量も少量ですむため、貴重な検体の維持保存、さらには試験のコスト削減や効率性の向上が可能になります。

このように簡便で迅速かつベンチトップの小型 SMCxPRO™ は、予算が限られたラボにとっても入手可能な経済的価格に設定されています。これにより、誰でも目的タンパク質を確実に検出できるようになり、創薬探索研究や候補薬物などの開発試験を進展させることができます。

1 分子カウント (SMC) 技術は、イムノアッセイ性能を極限まで向上させることを可能にします。しかし、ワークフローは従来の ELISA 法と変わりません。弊社独自のアッセイ溶出工程と確実なデジタルシグナルカウンティングにより、従来のイムノアッセイ法より SN 比が改善されます。これにより広域ダイナミックレンジが得られ、発現量が低～高レベルの広域におよぶ様々なタンパク質を 1 台の装置で包括的に検討することができます。

SMCxPRO™ の特長

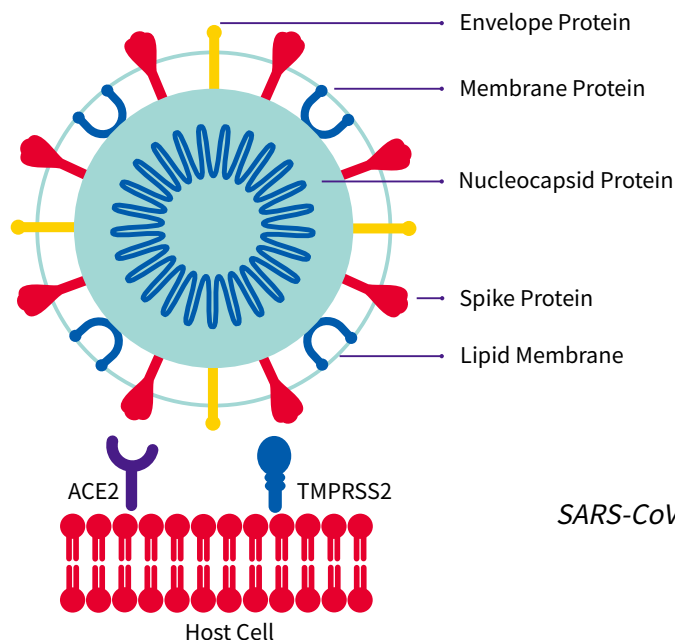
- 高感度定量 (fg/mL)
- 解析が 1 時間未満
- コンパクトなベンチトップ型：
幅 355.6 mm × 高さ 406.4 mm × 奥行 444.5 mm
- ビーズ使用のキット
- 600 種類の検証済抗体ペアを使用可能

MerckMillipore.com/smcxpro



ウイルス特性

有効なワクチンや治療薬の開発は、ウイルス特性の解明から始まります。細胞への侵入機序に関する初期の研究により、SARS-CoV-2 ウイルスの細胞内侵入は、アンジオテンシン変換酵素 II (ACE2) レセプターとの結合、およびセリンプロテアーゼ (TMPRSS2) による S タンパク質のプライミングによることが明らかにされています。



SARS-CoV-2 ウイルス構造の概略図

ウイルスについて

SARS-CoV-2 ウイルスはプラス鎖 RNA ウィルスで、ヒトにおいて重症呼吸器症候群を引き起こします。この成熟ウイルスは、4種類の構造タンパク質で構成されています。すなわち、エンベロープ（E）、膜（M）、ヌクレオカプシド（N）、およびスパイク（S）タンパク質です。E および M はウイルス形成に、N は RNA 合成に必要なタンパク質です。

スパイク（S）タンパク質は、ウイルスの細胞膜結合および細胞内への侵入に関与しています。S タンパク質前駆体にはフーリン酵素による切断部位が存在しており、感染細胞のフーリン酵素によって S1（685 アミノ酸残基）と S2（588 アミノ酸残基）間で切断されてサブユニットを生じます。

SARS-CoV-2 ウィルスでは、S タンパク質が TMPRSS2 のセリンプロテアーゼ活性によりプライミングされることが示されています。S タンパク質は、フーリン酵素により S1/S2 部位で切断されることにより活性化され、TMPRSS2 依存性の細胞内侵入が可能になると考えられています。S1 サブユニットには、アンジオテンシン変換酵素 II (ACE2) と高親和性 ($K^d = 15 \text{ nM}$) を有する受容体結合部位があります。S1 が ACE2 と結合することにより、ウイルス粒子が ACE2 ペプチダーゼ領域を介して細胞内に侵入します。S2 サブユニットは、構造的保存性が高く、コウモリを宿主とするコロナウィルスとの類似性が 99% であることが確認されているタンパク質で、感染細胞膜との融合に関与していることが報告されています。

S 糖タンパク質の開裂は、ウイルスの種間感染を可能にする重要な工程であると考えられています。このため、S 糖タンパク質の開裂阻害は、コロナウィルスによる人獣共通感染の防御になる可能性があります。

フーリン：スパイクタンパク質切断酵素

フーリンは、細胞内で普遍的に発現している酵素で、構成的分泌経路においてエンドプロテアーゼ活性を有しており、プロペプチドがコンセンサス配列 RX (K/R) R で自己開裂します。フーリン酵素はトランスゴルジネットワークと細胞表面との間を行き来する 1 回膜貫通型タンパク質で、プロペプチドは 26 アミノ酸残基のシグナルペプチドと、フーリン酵素活性を阻害するペプチド領域 (27 ~ 107 アミノ酸残基) を含んでいます。この阻害ペプチドは分子内シャペロンの役割を担っており、小胞体 (ER) 内で自触媒反応により除去されますが、潜在的な自己阻害因子としてフーリンと共有結合した状態で ER に留まります。

フーリンタンパク質分子が小胞体外に放出されるためには、プロペプチドの開裂が必要になります。開裂後、トランスゴルジネットワークにおいてプロペプチド内で 2 回目の開裂が生じます。これによりプロペプチドが小胞体外に放出され、フーリン酵素として活性化されます。フーリン酵素の細胞質内ドメイン (739 ~ 794 アミノ酸残基) は、トランスゴルジネットワークへの局在化および細胞表面からの再生利用を担っています。

Furin Products

カタログ番号	Furin	Description	Size
F2677	Furin Human	A dibasic endoprotease has a molecular mass of 52.7 kDa. It is responsible for the proteolytic maturation of many precursor proteins in the secretory and endocytic pathways of mammalian cells.[2] Furin cleaves precursor proteins at their paired basic amino acid processing sites. One unit is defined as the amount of enzyme required to cleave 25 µg of a MBP-FN-paramyosin-ΔSal substrate to 95% completion in 6 hours at 25°C in a total reaction volume of 25 µl.	50 Units
344932	Furin, Human, Recombinant	Recombinant, human Furin expressed in vaccinia virus (VV:hFUR713t) infected BSC-40 cells. This preparation was subjected to UV irradiation for 5 min to inactivate any residual vaccinia virus. One unit is defined as the amount of furin that will cleave 1.0 pmol AMC from the substrate pGlu-Arg-Thr-Lys-Arg-AMC per min at 30°C, pH 7.5.	50 µL
SRP6274	Furin human, Recombinant, expressed in HEK 293 cells	Recombinant human Furin expressed in HEK293 cells. Lyophilized from 0.22 µm filtered solution in MES, Brij-35.	10 µg

Furin Antibodies

カタログ番号	製品名	Applications	Species Reactivity	Size
MABS1812	Anti-Furin Antibody, clone 16B1.1	Western Blot	Human	25 µg; 100 µg
SAB2109058	Anti-Furin (N-terminal) antibody	Western Blot	Human, Mouse	100 µg

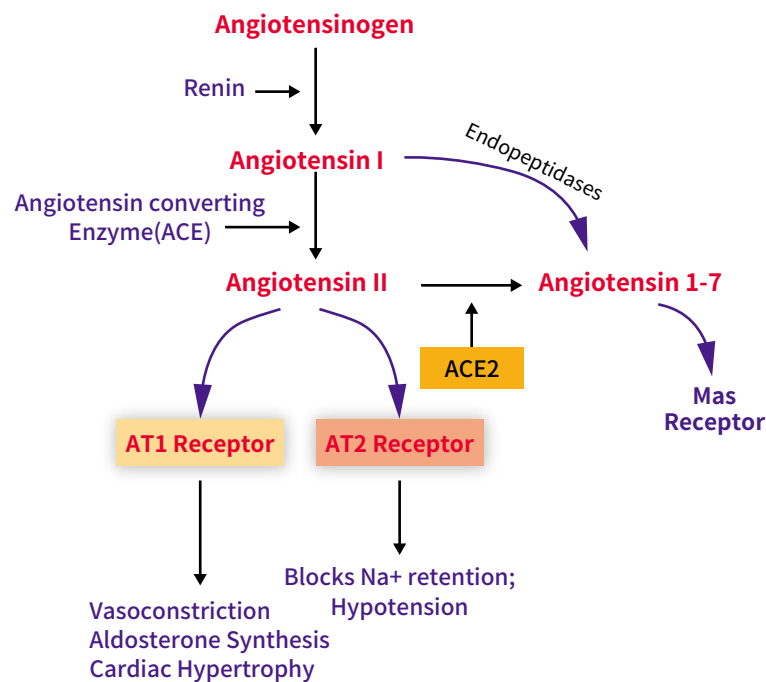
Furin Inhibitors

カタログ番号	製品名	Description	Size
344930	Furin Inhibitor I (Decanoyl-RVKR-CMK)	A peptidyl chloromethylketone that binds to the catalytic site of Furin and blocks its activity. Hence, it can be used as a high specificity cleavage inhibitor of viral glycoproteins and blocker of viral replication.	1 mg
344931	Furin Inhibitor II (Hexa-D-arginine, H-(D)RRRRRR-NH ₂)	A polyarginine compound that acts as a potent, specific, and competitive inhibitor of Furin (K _i = 106 nM).	1 mg
537076	Proprotein Convertase Inhibitor	A cell-permeable tripeptide derivative containing an Arg-X-Arg motive that acts as a highly potent and reversible Furin inhibitor (K _i = 16 pM).	2 mg
344935	Furin Substrate, Fluorogenic (Pyr-Arg-Thr-Lys-Arg-AMC)	A fluorogenic substrate for Furin, a mammalian homolog of the yeast Kex2 endoprotease (k _{cat} /K _m ~ 2 x 10 ⁴ s ⁻¹ M ⁻¹).	5 mg

アンジオテンシン変換酵素 II (ACE2) : SARS-CoV-2 ウイルスの受容体

アンジオテンシン変換酵素 (ACE) およびホモログの ACE2 は、ジペプチジルカルボキシジペプチダーゼの ACE ファミリーに属しており、2つの相反する機能を果たしていることが知られています。ACE は、アンジオテンシン I を開裂してアンジオテンシン II を生成します。アンジオテンシン II は、アンジオテンシン受容体に結合して血管収縮や高血圧をもたらします。

ACE2 は、アンジオテンシン 1-7 を生成する一方、アンジオテンシン II を不活化することが報告されています。アンジオテンシン 1-7 は、Mas 受容体を介して血管を拡張するヘptaペプチドです。(Santos et al., 2013)



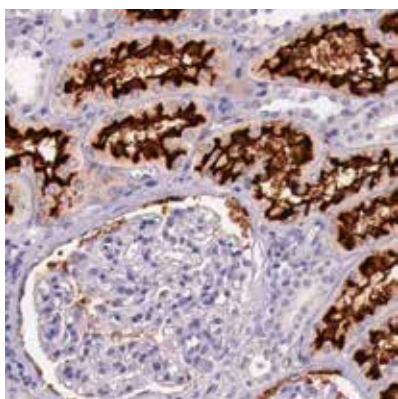
SARS-CoV-2 ウイルスは、ヒト ACE2 酵素と強力に相互作用する結合部位を有しており、ACE2 を利用して細胞内に侵入することが報告されています。ACE2 は、肺の II 型肺胞細胞、食道細胞、回腸および大腸の吸収性腸細胞、腎の近位尿細管細胞において高発現していることが報告されています。これらの組織では、SARS-CoV-2 ウイルスによる感染リスクが高いと考えられています。

実験動物による試験では、アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (ACEI) やアンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) で治療した場合、様々な組織で ACE2 発現が増加し得ることが示されています。(Ferrario, et al 2005; Klimas et al. 2015; Kuster et al. 2020)

Ref.: Ferrario CM., et al. (2005), Circulation 111: 2605-2610. Hao Xu, et al. (2020), Int. J. Oral Sci. 12: Article 8. Klimas, J., et al. (2015), J. Cell Mol. Med. 19(8): 1965-1974. Kuster GM., et al. (2020), Eur. Heart J. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehaa235>. Santos, RA et al., (2013), J Endocrinol. 216(2): R1-R17.

ACE2 Antibodies

カタログ番号	製品名	Applications	Species Reactivity	Size
MABN59	Anti-ACE2 Antibody, clone 4G5.1	WB	Human	100 µL
SAB3500346	Anti-ACE2 antibody	ELISA, IF, IHC, WB	Human, Mouse	100 µg
HPA000288	Anti-ACE2 antibody	IHC, WB	Human	100 µL
SAB2100025	Anti-ACE2 antibody	IHC, WB	Human	100 µL
SAB3500978	Anti-ACE2 antibody	ELISA, IF, IHC, WB	Human	100 µg
SAB3500977	Anti-ACE2 antibody	ELISA, IF, IHC, WB	Human	100 µg
AMAB91262	Monoclonal Anti-ACE2 antibody, clone CL4035	IHC, WB	Human	100 µL
AMAB91259	Monoclonal Anti-ACE2 antibody	IHC, WB	Human	100 µL



ヒト腎組織切片の免疫組織化学的解析：

抗 ACE2 抗体 (Cat. No. HPA000288) を用いて免疫組織化学染色したヒト腎組織切片。尿細管頂端膜細胞において強い陽性反応が認められる。

ACE2 Enzymes

カタログ番号	製品名	Description	Size
176872	Angiotensin Converting Enzyme-2, His•Tag™, Human, Recombinant, NSO Cells	Recombinant, human ACE-2 ectodomain (amino acids 1-740) fused at the C-terminus to a His•Tag sequence and expressed in NSO cells. Specific Activity: ≥ 0.8 unit/ μ g protein; Purity: $\geq 90\%$ by SDS-PAGE. One unit is defined as the amount of enzyme that will cleave 1 nmol MCA-YVADAPK(DNP)-OH per min at 25°C, pH 7.5.	10 µg
SAE0064	Angiotensin Converting Enzyme-2, ACE2	Recombinant human Angiotensin Converting Enzyme-2 (ACE-2) is expressed in HEK 293 cells as a C-terminally flag and his-tagged glycoprotein.	50 µg
176871	Angiotensin Converting Enzyme, His•Tag, Human, Recombinant, NSO Cells	Recombinant, human ACE ectodomain (amino acids 30-1261) fused at the C-terminus to a His•Tag sequence and expressed in NSO cells. Specific activity: ≥ 1 unit/ μ g protein; Purity: $\geq 95\%$ by SDS-PAGE. One unit is defined as the amount of enzyme that will cleave 1 nmol MCA-RPPGFSAFK(DNP)-OH per min at 25°C, pH 6.5.	10 µg

カタログ番号	製品名	Description	Size
AG782	Angiotensin Converting Enzyme, Rat	Catalyzes both angiotensin I transformation to Angiotensin II and degradation of bradykinin. Purity is >95% by SDS-PAGE. One unit will produce 1 μ mol of hippuric acid or His-Leu from Z-Phe-His-Leu per minute in 0.1 M phosphate buffer and 300 mM NaCl at pH 8.3 at 37°C.	1 Unit
A6778	Angiotensin Converting Enzyme, Rabbit Lung	Removes C-terminal dipeptides from susceptible substrates. One unit will produce 1.0 micromole of hippuric acid from hippuryl-HIS-LEU per minute in 50 mM HEPES and 300 mM NaCl at pH 8.3 at 37°C.	0.1, 0.25, 1, 2, 5 Units
A2580	Angiotensin Converting Enzyme, Porcine Kidney	Removes C-terminal dipeptides from susceptible substrates. One unit will produce 1.0 μ mole of hippuric acid from Hippuryl-His-Leu per min in 50 mM HEPES and 300 mM NaCl at pH 8.3 at 37 °C.	0.1, 0.5, 1 Unit

Selected ACE and ACE2 Inhibitors

カタログ番号	製品名	Description	Size
530616	ACE2 Inhibitor, MLN-4760	A cell-permeable, bioavailable, highly potent, inhibitor of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2; IC ₅₀ = 440 pM against soluble human ACE2) that exhibits far greater selectivity over bovine carboxypeptidase A and porcine ACE (IC ₅₀ = 27 and >100 μ M, respectively). Purity: $\geq$ 97% by HPLC.	2 mg
211875	Captopril	An antihypertensive agent that competitively inhibits angiotensin-converting enzyme (ACE; IC ₅₀ = 23-35 nM) and acts as a reversible and competitive inhibitor of LTA ₄ hydrolase (IC ₅₀ = 11 μ M). Purity: >98% by titration.	1 g
L6292	Lisinopril	A highly potent inhibitor of Angiotensin-converting enzyme (IC ₅₀ = 1.2 nM). Purity: >98% by HPLC.	200 mg

Selected Antagonists of Angiotensin II AT1 Receptor

カタログ番号	製品名	Description	Size
61188	Losartan, Potassium	Losartan potassium is an antihypertensive drug that is found to be an angiotensin II receptor type 1 (AT1) blocker (IC ₅₀ = 20 nM).	100 mg
SML0142	Valsartan	An Angiotensin II type 1 (AT1) receptor antagonist and anti-hypertensive (IC ₅₀ = 2.7 nM). Purity: >98% by HPLC.	50 g

2 型膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2)

TMPRSS2 は、ペプチダーゼ S1 ファミリーに属する II 型 1 回膜貫通型タンパク質で、スパイク糖タンパク質を開裂・活性化させることにより、ウイルスと感染細胞膜との融合を促進することが明らかにされています。ヒト SARS コロナウイルス (SARS-CoV) の細胞内侵入は、スパイク糖タンパク質における 2 つの独立した機序によって生じることが示されています。すなわち、ACE2 受容体との結合後に TMPRSS2 により開裂することで促進される感染細胞膜との融合、およびカテプシン-L 非依存的に活性化されることで促進される細胞内への侵入です。

TMPRSS2 は、前立腺組織において高レベルで発現していますが、結腸、胃、精巣上体、および乳房の各組織では低レベルの発現です。腫瘍性前立腺および前立腺肥大の上皮では顕著な発現上昇が認められています。TMPRSS2 は、細胞質ドメイン (1 ~ 84 アミノ酸残基)、膜貫通ドメイン (85 ~ 105 アミノ酸残基)、および細胞外ドメイン (106 ~ 492 アミノ酸残基) から構成されています。256 ~ 489 アミノ酸残基がペプチダーゼ活性を有しています。TMPRSS2 は自触媒活性によって開裂し、触媒活性がないサブユニット (1 ~ 255 アミノ酸残基) と、触媒活性を有するサブユニット (256 ~ 492 アミノ酸残基) の 2 鎖に分離することが報告されています。

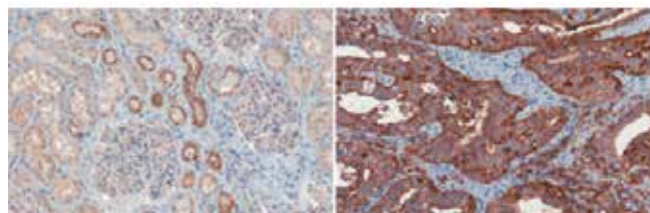
TMPRSS2 Antibodies

カタログ番号	製品名	Applications	Species Reactivity	Size
SAB2501046	Anti-TMPRSS2 antibody produced in Goat	ELISA, WB	Human	100 µg
HPA035787	Anti-TMPRSS2 produced in Rabbit	IHC, WB	Human	100 µL
MABF2158	Anti-TMPRSS2 Antibody, clone P5H9-A3	ELISA, IHC, WB	Human	25 µg, 100 µg
SAB1402376	Monoclonal Anti-TMPRSS2, (C-terminal) antibody	ELISA, WB	Human	100 µg

パラフィン切片の免疫組織化学的解析：

熱処理により抗原を賦活化し、ホルマリン固定パラフィン包埋したヒト腎組織切片（左）とヒト前立腺組織（右）。

免疫染色は、Cat. No. MABF2158、Anti-TMPRSS2、clone P5H9-A3 を 1：50（左）および 1：250（右）にそれぞれ希釈して使用した。



TMPPRSS2 Inhibitor

カタログ番号	製品名	Description	Size
SML0057	Camostat mesylate	A synthetic, orally bioavailable serine protease inhibitor that inhibits the entry of SARS-Cov-2 into lung cells and blocks production of TNF-α and monocyte chemoattractant protein-1. It also inhibits the activity of pancreatic stellate cells. Camostat mesylate regulates the cytokine expression and inflammation and is effective in the treatment of dibutyltin dichloride-induced rat pancreatic fibrosis. MW. 398.4. Purity: >98% by HPLC. Ref.: Hoffmann, M., et al. (2020). Cell. 181: 1-10.	10 mg, 50 mg

細胞株を用いた 呼吸器疾患のモデル化

SARS-CoV ウイルスの付着や増殖を調べるために、細胞株が一般的に使用されています。ウイルスの分離、検出、特性試験に細胞株を使用する方法は、簡便かつ費用対効果に優れているためです。

弊社は、カリフォルニア州立大学サンフランシスコ校、NIH Cystic Fibrosis Research Center の Gruenert 研究室からライセンス供与された肺上皮細胞株の全コレクションを、呼吸器疾患研究用に提供しています。これらの細胞株に関する多くの論文が発表されており、嚢胞性線維症、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、肺癌、大気汚染への曝露、紙巻きタバコや電子タバコ喫煙の影響、さらにはインフルエンザ H1N1、SARS-CoV、MERS-CoV、COVID-19 による感染症など、肺の様々な疾患モデルとして有用であり、貴重なモデル細胞です。

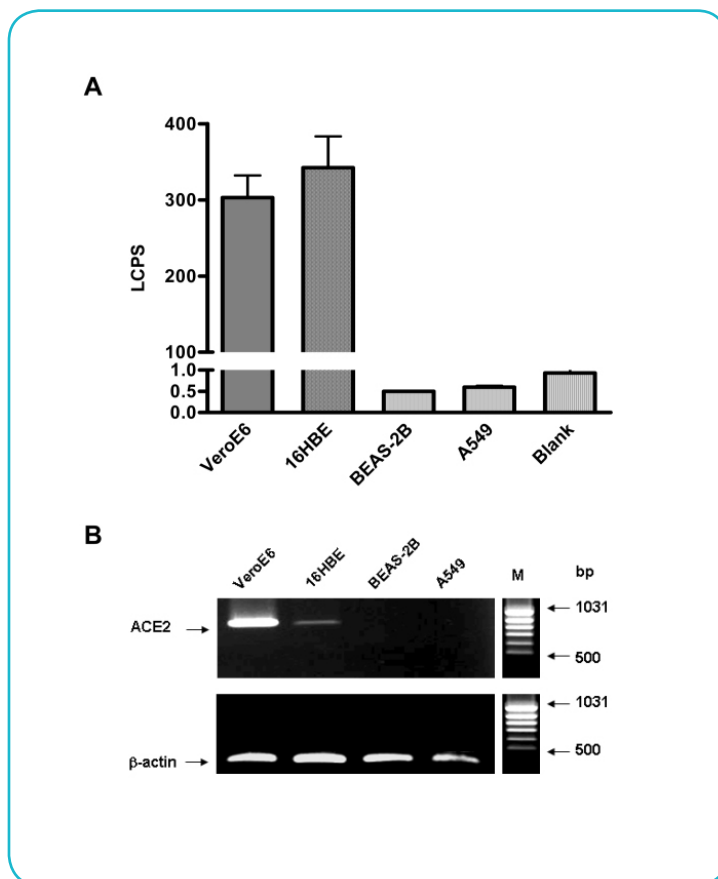
気管支は、肺への主要気道で肺組織に近いほど細くなり、肺組織近傍では細気管支になります。これらの通気道は、肺泡と呼ばれる小さい空気嚢に通じています。呼吸器系において酸素と二酸化炭素が置換される場所が肺泡です。

16HBE14o- は、心肺患者から単離した細胞を株化したヒト気管支上皮細胞株で、複製起点に欠陥を有する SV40 プラスミド（pSVori-）により不死化されています。この細胞株は、玉石状形態、サイトカイン発現、密着結合能、指向性イオン輸送、および経上皮電気抵抗（TEER）など、分化した正常気管支上皮細胞に認められる特徴を保持しています。気液界面（ALI）での細胞生育では、機能性繊毛が確認されています。殆どの呼吸器系細胞株と異なり、16HBE14o- では嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（CFTR）の mRNA およびタンパク質を高レベルで発現しています。

Cell Lines

カタログ番号	製品名	Tissue of Origin	CFTR Genotype
SCC150	16HBE14o-	Bronchi	Wt/Wt
SCC152	1HAEo-	Trachea/Bronchi	Wt/Wt
SCC153	9HTEo-	Trachea	Wt/Wt
SCC154	56FHTE8o-	Trachea	Wt/Wt
SCC157	6CFSMEo-	Submucosal Gland	dF508/Q2X
SCC155	CFSMEo-	Submucosal Gland	dF508/Q2X
SCC162	CFTE29o-	Trachea	dF508/dF508
SCC151	CFBE41o-	Bronchi	dF508/dF508
SCC158	CFBE41o-/CFTR 4.7N	Bronchi	dF508/dF508 transfected Wt
SCC159	CFBE41o-/CFTR deltaF4.7	Bronchi	dF508/dF508 transfected dF508
SCC160	CFBE41o-/CFTR 6.2N	Bronchi	dF508/dF508 transfected Wt
SCC161	CFBE41o-/CFTR 6.2deltaF	Bronchi	dF508/dF508 transfected dF508

SARS-CoV1 ウイルスの細胞内侵入に関する研究に使用された 16HBE 細胞株



ヒト気道上皮細胞の SARS-CoV ウイルスに対する感受性試験。RT-PCR により、16HBE 細胞株における ACE2 発現が検出可能であることを示しています。

Reference: Kam YW, Okumura Y, Kido H, Ng LF, Bruzzone R, Altmeyer R. Cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein by airway proteases enhances virus entry into human bronchial epithelial cells in vitro. PLoS One. 2009;4(11):e7870. Published 2009 Nov 17. doi:10.1371/journal.pone.0007870

気液界面（ALI）培養

16HBE14o- 細胞株などヒト肺気管支上皮細胞は、3 次元 気液界面（ALI）培養技術を用いることにより成熟細胞表現型を有する肺細胞へと分化します。ALI 培養で生育した肺気管支上皮細胞では、極性（頂端面と基底面）、多様な分化細胞型（杯細胞、クラブ細胞、繊毛細胞、基底細胞など）、密着結合性、および繊毛運動が認められます。気液界面細胞培養系では、ミリセルやトランスウェルインサートを用いて物理的バリアーを設けることで、疑似的な多層の気道上皮を構築することができます。

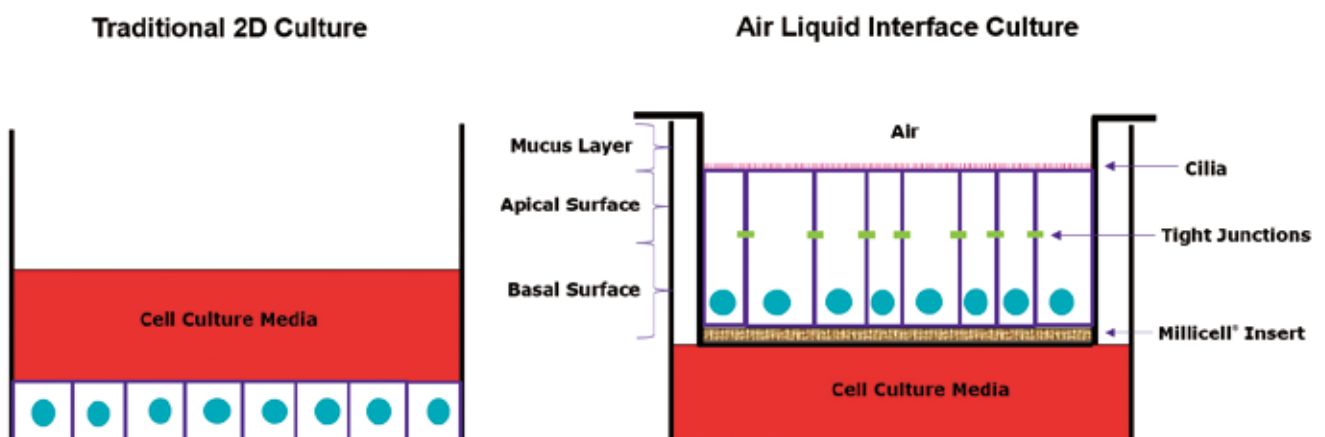


Figure 1. Culture of lung epithelial cells using traditional 2D vs. 3D air liquid interface (ALI) cultures.

気液界面培養プロトコル

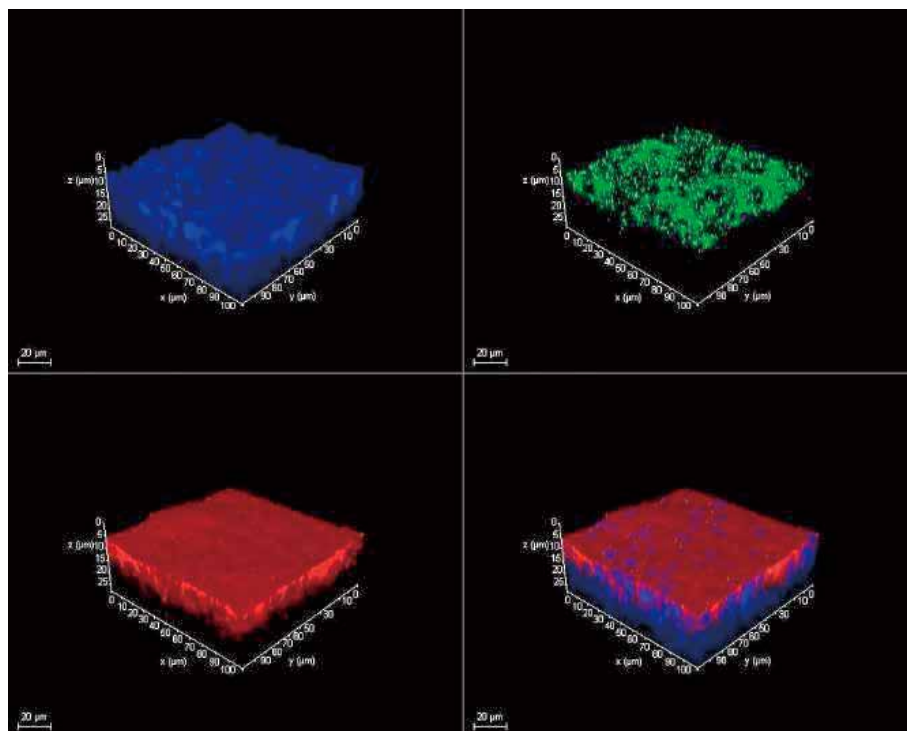


Figure 2. ALI culture of 16HBE14o- human bronchial epithelial cells.
16HBE cells exhibit polarity with tight junctions (ZO-1) and epithelial barrier function when grown in air-liquid interface (ALI) culture.

上皮細胞の培養



Featured Products

カタログ番号	製品名
MERS0002	Millicell® ERS-2 VoltOhmmeter
MCHT06H48	Millicell® Hanging Cell Culture Insert, PET 0.4 μm, 6-well, 48/pk
MCHT12H48	Millicell® Hanging Cell Culture Insert, PET 0.4 μm, 12-well, 48/pk
MCHT24H48	Millicell® Hanging Cell Culture Insert, PET 0.4 μm, 24-well, 48/pk
MCRP06H48	Millicell® Hanging Cell Culture Insert, PET 1 μm, 6-well, 48/pk
MCRP12H48	Millicell® Hanging Cell Culture Insert, PET 1 μm, 12-well, 48/pk
MCRP24H48	Millicell® Hanging Cell Culture Insert, PET 1 μm, 24-well, 48/pk

嚢胞性線維症および CFTR 機能試験用のモデル細胞

嚢胞性線維症は、肺や消化器系に障害をもたらす遺伝性疾患で、濃厚な粘液を産生して肺閉塞を生じ、死に至ることがあります。嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（CFTR）タンパク質は、肺細胞における塩分と水分のバランス維持に関与しており、CFTR 遺伝子における変異が嚢胞性線維症をもたらします。16HBE14o- 細胞株（SCC150）は、細胞膜表面に野生型 CFTR タンパク質を発現しています。CFBE41o- 細胞株（SCC151）は CF 患者から調製した $\Delta F508$ CFTR 変異型ホモ接合体を有し、そのサブクローン細胞株では、 $\Delta F508$ CFTR 変異が正常化されています（SCC158 ~ SCC161）。

Freedman SD., et al. Cell culture models demonstrate that CFTR dysfunction leads to defective fatty acid composition and metabolism. *J Lipid Res.* 2008 Aug;49(8):1692-700.

Prince A., et al. Toll-like receptors in normal and cystic fibrosis airway epithelial cells.

Am J Respir Cell Mol Biol. 2004 Jun;30(6):777-83.

Maiuri L., et al. Defective CFTR induces aggresome formation and lung inflammation in cystic fibrosis through ROS-mediated autophagy inhibition. *Nat Cell Biol.* 2010 Sep;12(9):863-75.

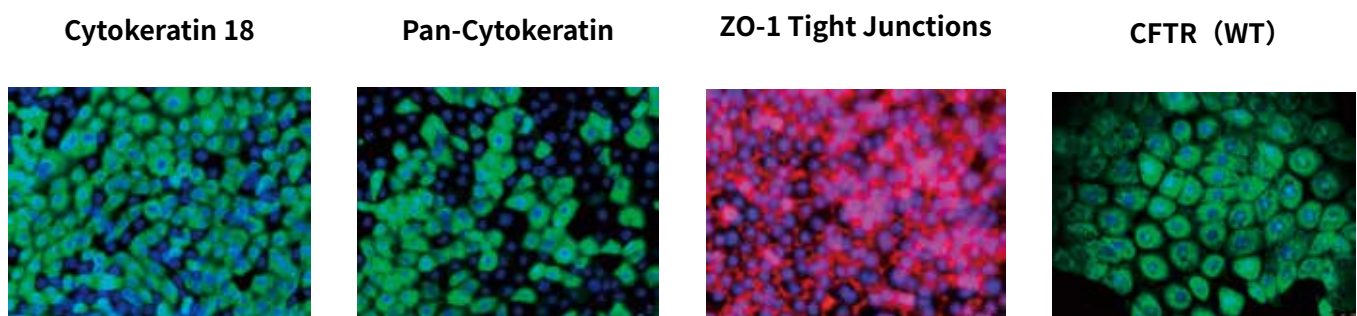


Figure 3. Antibody characterization of the 16HBE14o- cell line. 16HBE14o- cells express wildtype CFTR and form tight junction (ZO-1) and key lung epithelial markers (cytokeratin 18 and pan-cytokeratin).

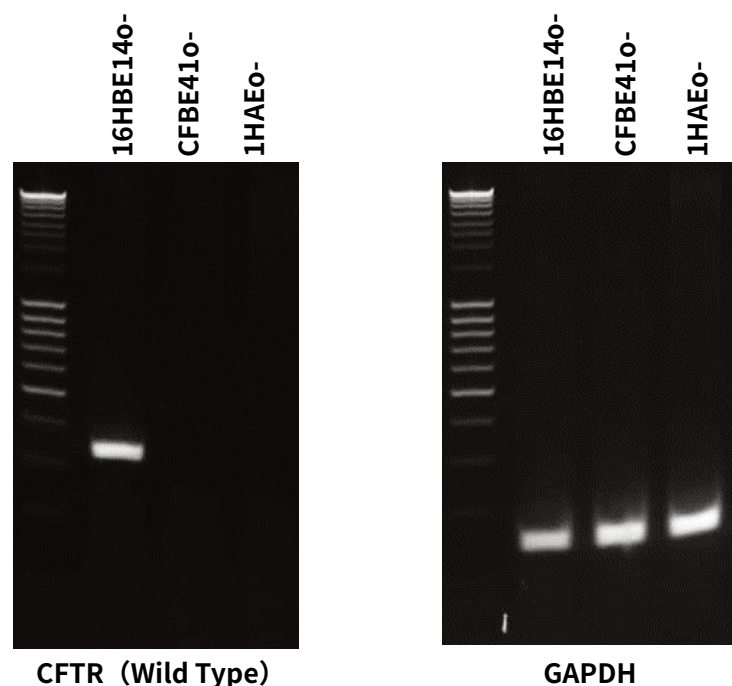


Figure 4. CFTR gene expression of bronchial epithelial cell lines. 16HBE14o- cells express wild-type CFTR genes while CFBE41o- and 1HAEo- lack CFTR gene expression.

ウイルス性呼吸器疾患の発生機序 (H1N1、SARS-CoV、COVID-19)

多くの呼吸器感染ウイルス（インフルエンザ H1N1、SARS-CoV、MERS-CoV、RSV、COVID-19）は、肺上皮細胞を介してヒト体内に侵入します。16HBE14o- 細胞株は、ワクチンや治療薬を開発するために、多くのウイルスにおける感染機序の探究や特性解明に使用されています。16HBE14o 細胞株は、アンジオテンシン変換酵素 2（ACE2）と TMPRSS2 酵素を発現しています。ACE2 は SARS-CoV ウイルスが細胞に結合するための受容体であり、TMPRSS2 はウイルスの増殖に必要とされる酵素です。

Altmeyer R. et al. Cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein by airway proteases enhances virus entry into human bronchial epithelial cells in vitro. PLoS One. 2009 Nov 17;4(11):e7870.

Chen XY., et al. Immunologic mechanism of Patchouli alcohol anti-H1N1 influenza virus may through regulation of the RLH signal pathway in vitro. Curr Microbiol. 2013 Oct;67(4):431-6.

Qin X., et al. Differentiation of Th subsets inhibited by nonstructural proteins of respiratory syncytial virus is mediated by ubiquitination. PLoS One. 2014 Jul 3;9(7):e101469.

喘息および COPD に関する研究

喘息や慢性閉塞性肺疾患（COPD）は気道感染により生じる呼吸器疾患で、呼吸困難や粘液過剰産生を生じて肺損傷を引き起こします。16HBE14o- 細胞は、炎症細胞の動員や活性化の検討、さらに喘息および COPD の発生の根本的機序を解明するために、モデル細胞として使用されてきました。

Heijink IH., et al. Caveolin-1 controls airway epithelial barrier function. Implications for asthma. Am J Respir Cell Mol Biol. 2013 Oct;49(4):662-71.

Davies DE., et al. Barrier disrupting effects of alternaria alternata extract on bronchial epithelium from asthmatic donors. PLoS One. 2013 Aug 23;8(8):e71278.

Gjomarkaj M., et al. Beta defensin-2 is reduced in central but not in distal airways of smoker COPD patients. PLoS One. 2012;7(3):e33601.

大気汚染への曝露

オゾンガス (O₃)、および車の排気ガスや LP ガス燃焼産物などに含まれるベンゼンや二酸化窒素 (NO₂) は、アレルギー性気道疾患や肺癌の発生に重要な役割を果たしています。16HBE14o- 細胞は、大気汚染によるヒト呼吸器上皮細胞への障害効果を研究するためのモデル細胞として使用されてきました。

Cao Y, et al. Air pollution and DNA methylation alterations in lung cancer: A systematic and comparative study. *Oncotarget*. 2017 Jan 3;8(1):1369-1391.

He K., et al. Transcriptomic Analyses of the Biological Effects of Airborne PM2.5 Exposure on Human Bronchial Epithelial Cells. *PLoS One*. 2015 Sep 18;10(9):e0138267.

Baeza-Squiban A., et al. Human airway epithelial cells in culture for studying the molecular mechanisms of the inflammatory response triggered by diesel exhaust particles. *Cell Biol Toxicol*. 2002;18(5):315-20.

紙巻きたばこや電子たばこ喫煙による肺機能への影響

紙巻きたばこや電子たばこ喫煙は、上皮細胞に炎症を生じ損傷が増悪することが確認されており、喫煙者の気道上皮組織における防御機能の崩壊が示唆されています。特に、紙巻きたばこの煙は気道上皮組織の防御機能に障害をもたらすことで肺癌を引き起こします。16HBE14o- 細胞は、紙巻きたばこや電子たばこ喫煙が気道上皮細胞に及ぼす障害の効果を検討するためのモデル細胞として使用されてきました。

Van Oosterhout AJ., et al. Cigarette smoke impairs airway epithelial barrier function and cell-cell contact recovery. *Eur Respir J*. 2012 Feb;39(2):419-28.

Reynolds PN., et al. Smoking alters alveolar macrophage recognition and phagocytic ability: implications in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007 Dec;37(6):748-55.

Rahman I., et al. Inflammatory Response and Barrier Dysfunction by Different e-Cigarette Flavoring Chemicals Identified by Gas Chromatography-Mass Spectrometry in e-Liquids and e-Vapors on Human Lung Epithelial Cells and Fibroblasts. *Appl In Vitro Toxicol*. 2017 Mar 1;3(1):28-40.

ワクチン開発

急速に広がる COVID-19 パンデミックに直面した状況において、ワクチンは感染拡大に対する実行可能な防止策として大きく期待されています。ワクチン開発には通常 10 ～ 15 年が必要とされますが、開発期間の短縮が最重要課題となっています。開発期限厳守が極めて重要であることは弊社も充分理解しており、信頼性が高い試薬や革新的製品の開発、さらに要望に対応する製造施設の柔軟な調整などに取り組むことで、ワクチン開発プロセスの効率化を支援していきます。

10 ～ 15 年を要するワクチン開発



ウイルスタンパク質抗原の産生

ワクチンや診断キットの開発には、高純度のウイルスタンパク質抗原が必要になります。さらに、その生産規模を拡大する場合、通常はリコンビナントタンパク質を利用します。リコンビナントタンパク質を迅速に産生する1つの方法は無細胞系（CFPE）で、目的のタンパク質を1日以内に産生することが可能で極めて有用です。生細胞を使用する方法と比べ、CFPEでは産生までの時間を大幅に短縮することができ、収量も増大化され、ハイスループット化にも対応可能です。このため、緊急性を要する SARS-CoV-2 ウイルスのワクチンや診断薬の開発競争に携わっている研究者にとって、CFPE は理想的な技術です。

in vitro での転写翻訳反応

CFPS（弊社製品）を用いてタンパク質を産生するには、（プラスミドまたは PCR 産物を使用するための）ターゲットタンパク質をコードする DNA テンプレートが必要です。さらに、無細胞溶液には転写翻訳の反応に必要な全ての成分が含まれていなければなりません。CFPS には、細胞質やオルガネラが含まれている一方、細胞膜が除去されていることから無細胞抽出物（細胞ライセート）と呼ばれています。細胞ライセートに遺伝物質を添加することで、ターゲットタンパク質の発現が開始されます。

細胞ライセートの調製に適した細胞の種類

最初に調製された CEPE 系では E. coli ライセートが使用されていますが、真核生物のタンパク質発現には限界があります。次に登場したのはコムギ胚芽から調製した CFPE ライセートです。弊社の次世代無細胞タンパク質発現キット（小麦胚芽、CFPS700）に含まれている細胞ライセートは、費用対効果、対応可能なタンパク質の種類、収量および安定性の各要素において、多くの競合製品より優れています。

新製品 ALiCE® キットは、植物細胞から調製した独自開発の細胞ライセートです。市販の細胞ライセート製品を用いた場合、通常得られる発現タンパク質の収率は真核細胞で 0.1 mg/mL 以下、原核細胞でも最大で 1 mg/mL です。ALiCE® キットでは、バッチ生産において 3 mg/mL という驚異の高収率が得られています。

さらに、調製マイクロソーム（管状に再構成された滑面小胞体）により、S-S 結合や糖鎖形成など、タンパク質形成における複雑なフォールディングや翻訳後修飾が可能です。ALiCE® キットのこれ以外の特長は：

- 価格標準化した場合、タンパク質発現量が競合製品より最大 30 倍
- 500 種類超の様々なタンパク質について、発現可能であることを検証済
- 簡素化されたワークフローにより最小限の操作で反応処理が可能であり、界面活性剤調製済の試薬により発現タンパク質の回収が容易（マイクロソーム局在のタンパク質を含む）

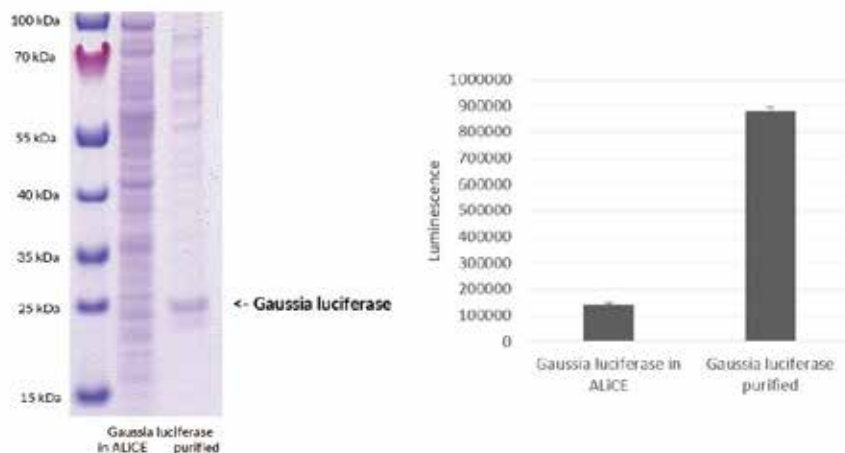


Figure: Expression of GLuc. The luciferase of the Gaussia princeps is a globular protein (19 kDa) and its active form has five disulfide bonds. Protein was targeted to the microsomes and produced over 48 hr at 25° C, 70% RH, 500 rpm and purified via His-Tag affinity chromatography. Activity determination was performed with catalysis of oxidation of coelenterazine to coelenteramide in a light-emitting reaction (λ_{em}) = 475 nm. Luciferase was concentrated during purification, resulting in higher arbitrary luminescence values.

無細胞系タンパク質発現キット

カタログ番号	Description
AL0103000	ALiCE® Cell Free Protein Expression Kit (Plant Cell Lysate) An eukaryotic cell free expression system with unprecedented 3 mg/mL recombinant protein yield in batch mode and post-translational modifications enabled
CFPS700	Next Generation Cell Free Protein Expression Kit (Wheat Germ) An Eukaryotic Cell Free Protein Expression system (CFPE/CFPS) with High Yield and Excellent Scalability, 50 reactions

ウイルスタンパク質の研究用ツール

アフィニティーゲル、アフィニティーカラム、および細胞溶解用の調製済バッファーにより、ウイルスタンパク質の抽出を迅速かつ精確に行うことができます。

カタログ番号	Description	Application
P6611	HIS-Select® Nickel Affinity Gel	HIS-Select® Nickel Affinity Gel is an immobilized metal-ion affinity chromatography (IMAC) product. The HIS-Select Nickel Affinity gel is a proprietary quadridentate chelate on beaded agarose charged with nickel that is designed to specifically bind histidine containing proteins.
P3391	Protein A-Sepharose®	Protein A-Sepharose® is used for affinity chromatography, antibody purification and characterization, immunoaffinity matrices, protein chromatography, protein A, G and L resins, and recombinant protein expression and analysis.
R0278	RIPA buffer	RIPA Buffer enables efficient cell lysis and protein solubilization while avoiding protein degradation and interference with the proteins' immunoreactivity and biological activity. RIPA Buffer also results in low background in immunoprecipitation and molecular pull-down assays

ステリフリップフィルター

Steriflip® フィルターユニットの独自構造により操作を 1 ステップ削減し、汚染リスクを低減させます。試料が入った一般的な 50 mL チューブに Steriflip® フィルターを接続し上下反転させた後、吸引ろ過を行います。

- 50 mL のコニカルチューブに直接濾過することでサンプル試料の移し替えを最小限に抑えます。
- Steriflip® のメンブレンは、高速流用の Millipore Express® (PES) メンブレンと、タンパク質の吸着が少ない Durapore® PVDF メンブレンの 2 種類よりお選びいただけます。

カタログ番号	Description	Membrane	Pore size (µm)	Qty/Pk
SCGP00525	Steriflip® - GP Filter Unit	Millipore Express® PLUS (PES)	0.22	25
SE1M179M6	Steriflip® - GV Filter Unit	Durapore® (PVDF)	0.22	25
SE1M003M00	Steriflip® - HV Filter Unit	Durapore® (PVDF)	0.45	25

ワクチンやウイルス感染治療薬の研究開発における サンプル調製と生化学試験

優れたワクチンの迅速な開発

Antibiotics

カタログ番号	Product Description
G3632	Gentamicin sulfate salt potency: $\geq 590\mu\text{g}$ Gentamicin base per mg
N5285	Neomycin trisulfate salt hydrate meets USP testing specifications, powder
P0972	Polymyxin B sulfate meets USP testing specifications, powder

Buffers

カタログ番号	Product Description
S3264	Sodium phosphate dibasic for molecular biology, $\geq 98.5\%$ (titration)
S1804	Trisodium citrate dihydrate meets USP testing specification
60229	Potassium phosphate monobasic tested according to Ph Eur, anhydrous
71631	Sodium bicarbonate tested according to Ph Eur
71345	Sodium carbonate BioUltra, anhydrous, $\geq 99.5\%$ (calc. on dry substance, T)
71636	Sodium phosphate dibasic BioUltra, for molecular biology, $\geq 99.5\%$ (T)
71507	Sodium phosphate monobasic monohydrate BioXtra, for molecular biology, $\geq 99.5\%$ (T)

Carbohydrates

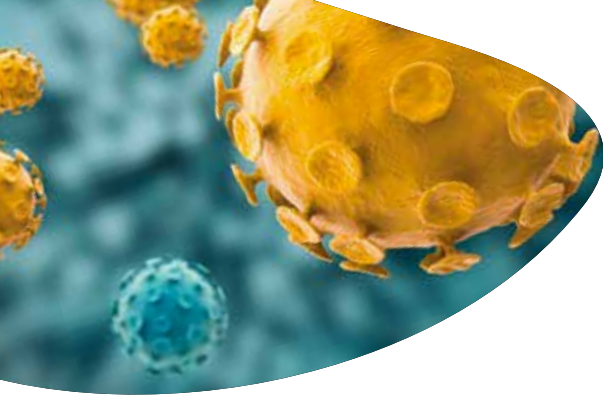
カタログ番号	Product Description
F0127	D -(-)-Fructose $\geq 99\%$
G8270	D -(+)-Glucose $\geq 99.5\%$ (GC)
S5016	Sucrose ACS reagent
S7903	Sucrose BioXtra, $\geq 99.5\%$ (GC)
S0389	Sucrose for molecular biology, $\geq 99.5\%$ (GC)
D9434	Dextrose meets EP, BP, JP, USP testing specifications, anhydrous

Enzymes & Proteins

カタログ番号	Product Description
70664-3	Benzonase recombinant endonuclease that cleaves DNA & RNA, removing impurities to improve downstream processing
4403-1GM	Lysozyme enzyme that breaks down bacterial cell walls to help extract genomic DNA
70663-4	Proteinase K serine protease that digests contaminating proteins during DNA extraction
69066-3	Recombinant Enterokinase purified preparation of the catalytic subunit of bovine enterokinase, a serine protease, used in the cleavage of recombinant fusion proteins
A1933	Bovine Serum Albumin chromatographically purified, New Zealand origin, low endotoxin, suitable for cell culture
A3059	Bovine Serum Albumin heat shock fraction, protease free, essentially globulin free
A7030	Bovine Serum Albumin heat shock fraction, protease free, fatty acid free, essentially globulin free
C8654	Casein sodium salt from bovine milk

General Reagents

カタログ番号	Product Description
F8775	Formaldehyde solution for molecular biology, 36.5-38% in H ₂ O
A2218	L-Ascorbic acid meets USP testing specifications
H6034	L-Histidine cell culture tested, meets EP, USP testing specifications, from non-animal source
P5405	Potassium chloride powder, BioReagent, suitable for cell culture, suitable for insect cell culture, $\geq 99.0\%$
S1679	Sodium chloride meets analytical specification of Ph. Eur., BP, USP, 99.0-100.5%
U5378	Urea powder, BioReagent, for molecular biology, suitable for cell culture
U4884	Urea meets USP testing specifications
G5882	Glutaraldehyde solution Grade I, 25% in H ₂ O, specially purified for use as an electron microscopy fixative
G7651	Glutaraldehyde solution Grade I, 50% in H ₂ O, specially purified for use as an electron microscopy fixative or other sophisticated use



抗原タンパク質の探索と非臨床試験による評価



ELISpot

Multiscreen

- Immune cell specific cytokine expression (often IFN- γ) in culture
- Screening for viral antigens
- Counting bacteria on filter plates



Secreted Cytokines

MILLIPLEX®

- PBMCs in Culture: Immune Cell Activity
- Serum Cytokines

ELISAs

Luminata ELISA HRP Substrates, Secondary Antibodies, Normal IgG or Serum

- Neutralizing Antibody Titer/Expression (Anti-Vaccine Antibodies)



Other Assays

IHC | Cytotoxicity | Dosing

Vaccine Adjuvants

Effective and safe biodegradable adjuvants which help promote an appropriate immune response.

- Adjuvant emulsions
- Bacteria-derived adjuvants
- Carbohydrate adjuvants
- Cytokines
- Mineral Salts
- Novel adjuvants

Critical Reagents

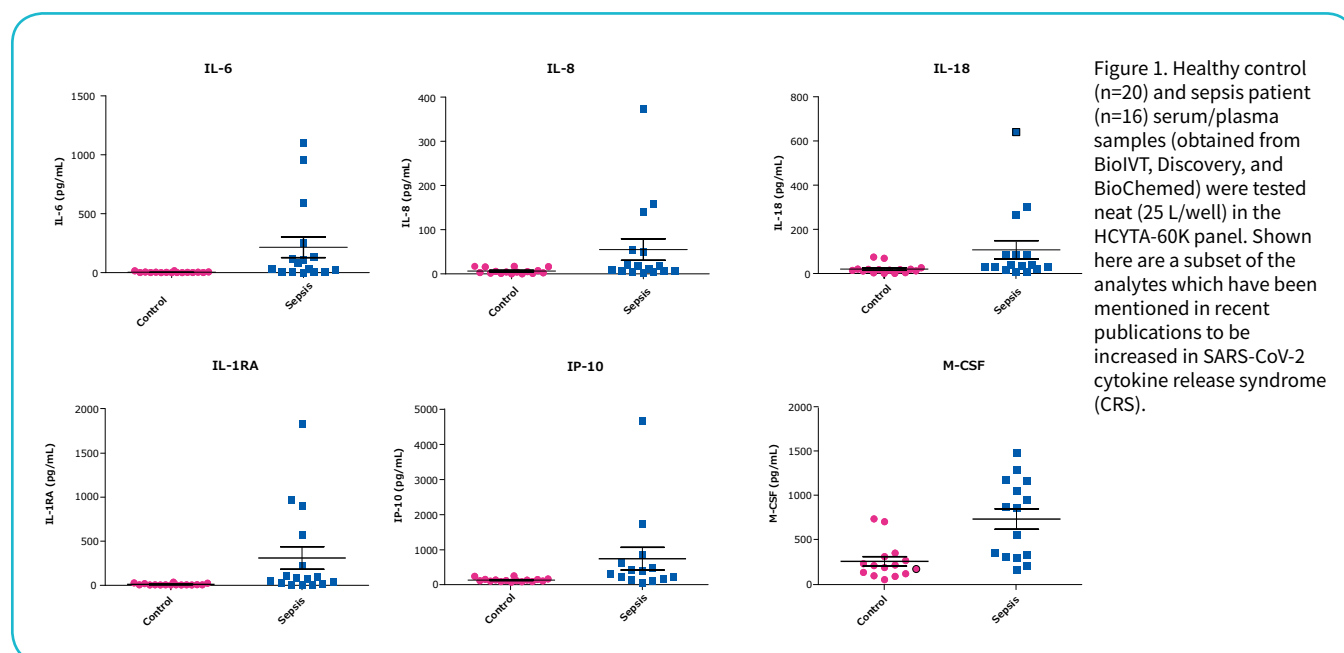
- Benzonase
- KOD
- Leupeptin
- Lysozyme
- Proteinase K
- Proteinase K Inhibitor
- Protein A/G
- Recombinant Enterokinase

Production

Making of the Vaccine

Products and services for cell culture, filtration, chromatography, concentration, mixing, disposable technologies, process monitoring, formulation and fill finish of vaccines.

MILLIPLEX® Human Cytokine Panel A による敗血症患者と健常者の血清／血漿検体中のサイトカイン濃度比較



Product Information

MILLIPLEX® Kit	カタログ番号
Human Serum/Plasma and Cell/Tissue Culture Samples	
Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A NEW	HCYTA-60K
Cytokine/Chemokine Panel I	HCYTOMAG-60K
Cytokine/Chemokine Panel II	HCYP2MAG-62K
Cytokine/Chemokine Panel III	HCYP3MAG-63K
Cytokine/Chemokine Panel IV	HCYP4MAG-64K
IL-18 Singleplex	HIL18MAG-66K
High Sensitivity T Cell, 96-well, 384-well	HSTCMAG-28K, HSTC384-28K
Th17	HTH17MAG-14K
CD8+ T Cell	HCD8MAG-15K
Soluble Cytokine Receptor	HSCRMAG-32K
Complement Panels 1, 2	HCMP1MAG-19K, HCMP2MAG-19K
TIMP Panels 1, 2	HTMP1MAG-54K, HTMP2MAG-54K
Multi-Species TGFβ Singleplex, 3-plex	TGFBMAG-64K-01, TGFBMAG-64K-03
Sepsis Panels 1, 2, 3	HSP1MAG-63K, HSP2MAG-63K, HSP3MAG-63K
Immunoglobulin Isotyping	HGAMMAG-301K
IgE Singleplex	HGAMMAG-303E

MILLIPLEX® Kit	カタログ番号
Non-Human Primate Serum/Plasma and Cell/Tissue Culture Samples	
Cytokine/Chemokine Panel I	PRCYTOMAG-40K
Cytokine/Chemokine Panel II	PRCYT2MAG40K
Cell Signaling Kits Cell/Tissue Lysate Samples	
Multi-Pathway 9 Plex	48-680MAG (phospho-), 48-681MAG (total)
NFκB 6 Plex	48-630MAG
STAT (Phospho) 5 Plex	48-610MAG

MILLIPLEX® キットは、ISO 9001-2015 に準拠した施設で製造している研究用（RUO）製品で、診療や医療診断の目的に使用することはできません。

Luminex® 技術を用いた MILLIPLEX® アッセイキットの全ポートフォリオについては以下をご覧ください。

[SigmaAldrich.com/milliplex](https://sigmaaldrich.com/milliplex)

心血管疾患バイオマーカーの測定

COVID-19 ウイルス検査が陽性の場合の死亡率は、基礎疾患がない患者が約 1% であるのに対し、心血管疾患既往の患者では約 10% であることが報告されており、高血圧や冠動脈の基礎疾患を有する COVID-19 感染症患者では死亡リスクが高くなっています。現在、この死亡率上昇の原因究明に関する研究が活発に進められており、基礎疾患との関係解明が、これらの患者に対する治療薬の開発につながります。

アテローム動脈硬化性心血管疾患の進展に関する研究の促進に有用な製品として、弊社では磁気ビーズを用いたバイオマーカーアッセイパネルを開発しました。このパネルには、心疾患進展の各段階に特徴的なアナライトが含まれています (表 1)。アナライトの多くは、複数の進展段階にも適合しています。これらアナライトを測定するためのイムノアッセイ系開発において、磁気ビーズを用いた Luminex® xmap® 技術が用いられています。

磁気ビーズを利用したアッセイ系では、使用しない場合に比べて複数の利点があります。すなわち、自動化によるハイスループットスクリーニングが容易であること、アッセイ用プレートやプレートウォッシャーの選択に柔軟性があること、そして技術的に問題となる障害が排除できることです (例: ウェルの詰まり。真空マニフォールドの使用や手動による洗浄でウェルに詰まりが生じることがあります)。マルチプレックスアッセイの感度、ダイナミックレンジ、ばらつきを検証した後、CVD (心血管疾患) 患者と健常者の血清と血漿サンプルを調べました。そこで CVD バイオマーカーの多くが CVD 患者で有意に上昇しており、アッセイパネルの有用性が示されました。

Table 1: Characteristic biomarkers for various stages of cardiovascular disease.

CVD Stage	Characteristic Biomarker
Platelet activation	ADAMTS13, L-Selectin, von Willebrand Factor (vWF), sE-Selectin, P-Selectin, sVCAM-1, Thrombomodulin
Inflammation	CXCL6, CXCL16, Endocan-1 (ESM-1), FABP4, Placental Growth Factor (PlGF), GDF-15, Lipocalin-2/NGAL, SAA, α-2-macroglobulin (A2M), C-Reactive Protein (CRP), Fetuin A, α-1-acid glycoprotein (AGP), SAP, Haptoglobin, PF4/CXCL4, Adipsin, PECAM-1, tPentraxin-3 (PTX-3), Oncostatin M (OSM)
Plaque instability/rupture	LIGHT, D Dimer, sICAM-1, Myeloperoxidase (MPO), dPAPP-A
Ischemia	FABP3, Tissue Factor, BNP
Myocardial dysfunction or stress	BNP, NTproBNP, Follistatin, Myoglobin, Myocardial necrosis CK-MB, Troponin I, Troponin T

*For research use only. Not for use in diagnostic procedures.

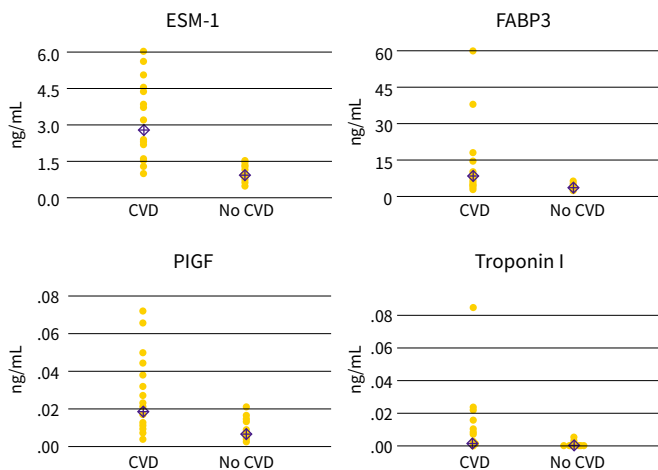


Figure 3.
Individual value plots for selected plasma analytes using MILLIPLEX®MAP Human CVD Magnetic Bead Panel 1; $p < 0.05$ for all analytes

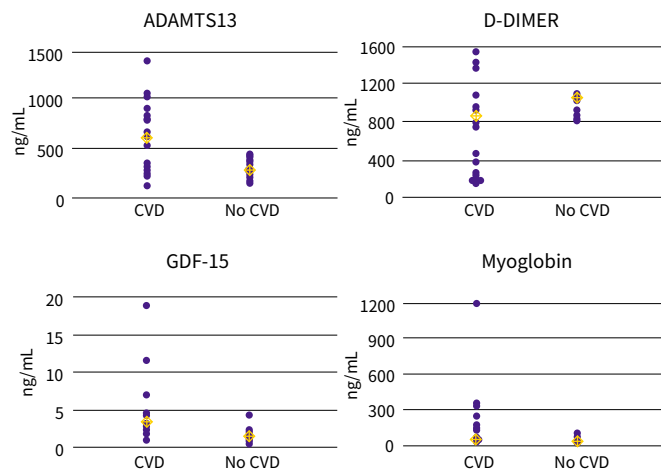


Figure 4.
Individual value plots for selected plasma analytes using MILLIPLEX®MAP Human CVD Magnetic Bead Panel 2; $p < 0.05$ for all analytes except for D-dimer.

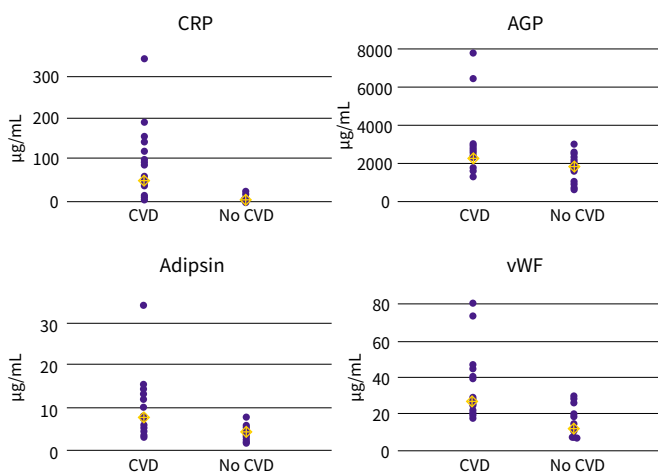


Figure 5.
Individual value plots for selected plasma analytes using MILLIPLEX®MAP Human CVD Magnetic Bead Panel 3; $p < 0.05$ for all analytes except AGP.

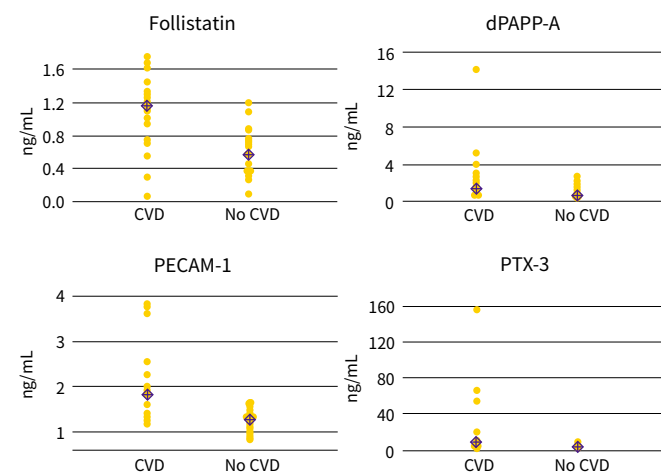
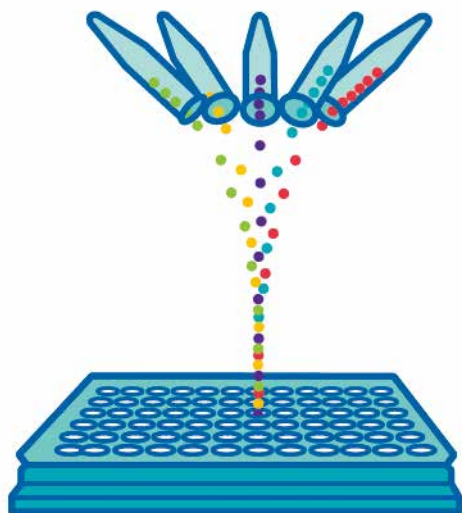


Figure 6.
Individual value plots for selected plasma analytes using MILLIPLEX®MAP Human CVD Magnetic Bead Panel 4; $p < 0.05$ for all analytes.

Figure: The four MILLIPLEX® map Human CVD Magnetic Bead Panels 1-4 enable accurate, sensitive, reproducible, simultaneous measurement of 41 CVD biomarkers in serum, plasma and tissue culture samples. In comparison with other commercial assay kits, these new multiplex panels show good correlations. Using these new human CVD biomarker assay panels, we found that, compared to samples from no-CVD subjects, CVD patient samples showed significantly elevated levels of many CVD biomarkers, such as ESM-1, FABP3, PIGF, Troponin I, ADAMTS13, GDF-15, Myoglobin, CRP, vWF, dPAPP-A, PECAM-1, PTX3, and others.

磁気ビーズを利用したバイオマーカー定量は、簡便さ、スループット、ハンズフリー操作の点で従来法より優れています。バイオマーカーパネルを用いて磁気ビーズ法で定量することにより、CVD の臨床研究におけるバイオマーカー探索を効率化できる可能性があります。



MILLIPLEX® と SMCxPRO™ プラットフォームとの統合

MILLIPLEX® イムノアッセイキットと SMCxPRO™ プラットフォームを用いて種々アナライトを定量測定することにより、疾患状態を包括的に検討することができます。このプラットフォームにより感度が向上し、マーカーにおける変化を容易に識別することが可能になります。

Featured Products

Description	カタログ番号
MILLIPLEX® map Human CVD Magnetic Bead Panel 1	HCVD1MAG-67K
MILLIPLEX® map Human CVD Magnetic Bead Panel 2	HCVD2MAG-67K
MILLIPLEX® map Human CVD Magnetic Bead Panel 3	HCVD3MAG-67K
MILLIPLEX® map Human CVD Magnetic Bead Panel 4	HCVD4MAG-67K

Related Instruments & Software

Description	カタログ番号
Belysa™ Immunoassay Curve Fitting Software	40-122
MAGPIX® System	40-072J
Luminex 200™ xPONENT® System	40-012J
FLEXMAP 3D® System	40-014J
BioTek® Magnetic 96-well Washer	40-094
BioTek® Magnetic/Vacuum Filtration 96-well Washer	40-095
BioTek® Magnetic 96-well Washer with Touch Screen and Ultrasonic Cleaning	40-096
Handheld Magnetic Separator Block for 96-Well Flat Bottom Plates or 96-Well Conical Well Plates	40-285

合成化学者をサポートする逆合成解析ソフトウェア

SYNTHIA™

SYNTHIA™は、65,000 種類を超える有機合成反応のルール、1,000 万種類の既知分子、および 350,000 種類におよぶ市販ビルディングブロックからなる化合物ネットワークを駆使し、出発物質から目的化合物に至る最適な合成経路を提案します。

SigmaAldrich.com/SYNTHIA



COVID-19 感染症に対する新規治療薬の開発競争において、研究者は限られた種類の原材料から新規の低分子化合物を合成するという難題に直面しています。SYNTHIA™は、逆合成解析により合成経路を設計するコンピュータプログラムで、研究室ごとに異なる合成手法の特性や要望を反映させることができるため、ドラッグライクなターゲット化合物の合成において、最適な経路を迅速に提示することができます。

コンピュータ設計により、薬効性を有する多様なターゲット化合物を実験室で効率的に合成

商業的価値が高い 7 種類の生理活性物質と 1 種類の天然物からなる、構造的に多様な 8 種類の物質について、その合成経路を Chematica プログラムを用いて設計しました。コンピュータにより設計された合成経路の全てにおいて、目的物質を合成することに成功しました。さらに、従来法に比べて収率が大幅に向上し、試薬のコストも削減されました。この技術により、特許で保護された合成経路を回避する代替経路の開拓や、これまでにない新規ターゲット物質の合成が可能になります。

Ref: Klucznik et al. Efficient Syntheses of Diverse, Medicinally Relevant Targets Planned by Computer and Executed in the Laboratory. Chem, 2018, 3: 522532.

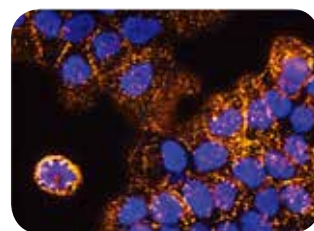
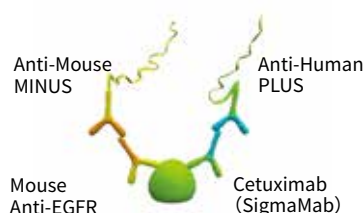
Duolink™ PLA による候補薬物の薬効モニタリング

Duolink 近接ライゲーションアッセイ (PLA) は、in situ において内在性タンパク質を検出・定量し、さらに、タンパク質の修飾や相互作用を高感度かつ特異的に検討することが可能な強力なツールです。Duolink PLA を使用することにより、創薬研究の早い段階において、候補薬物の可能性について迅速な意思決定に役立つ試験結果が得られます。これにより創薬研究が促進され、臨床使用されるまでの期間を短縮することができます。

Duolink PLA のアプリケーション

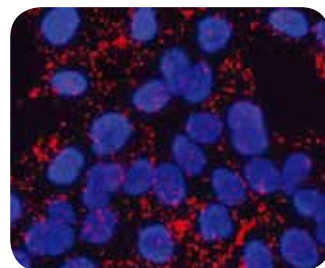
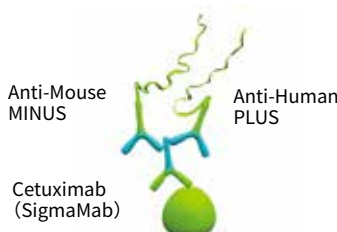
Duolink PLA の Anti-Human および Anti-Mouse プローブを用いたターゲッティング検証

2種類の抗体による二重特異性とシグナル増強プローブを統合した Duolink PLA 技術により、抗体医薬が結合するターゲットの的確性を検証することができます。ターゲット特異抗体（例：マウス抗 EGFR 抗体）と抗体医薬（例：セツキシマブ）に、Duolink PLA の Anti-Human および Anti-Mouse プローブをペアで使用することにより、抗体医薬のターゲット特異的結合を確認することができます。



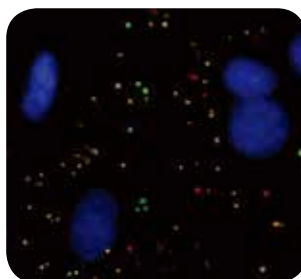
Duolink Anti-Human PLA Probes により薬物の生物学的ターゲットを高感度に検出

抗体の特異的 1 次認識とローリングサークル増幅によるシグナル増幅により、抗体医薬が結合する極めて低レベルの分子を検出することができます。Duolink PLA では感度が極めて高く、フェムトモルレベルのタンパク質相互作用や単分子検出（データ非掲載）に使用することができます。



候補治療薬の下流効果を確認

リード抗体医薬や低分子化合物を、生物学的機能や潜在的オフターゲット効果に基づいてスクリーニングする場合、in vitro での定量やハイスループットスクリーニングが可能であることは、創薬のスクリーニングプロセスにおいて重要な要素です。Duolink PLA Multicolor キットは、シグナル伝達経路におけるタンパク質の活性化（例：EGF）や阻害（例：セツキシマブ）に伴う変化についてモニタリングすることができます。



Duolink PLA Multicolor

Green: EGFR-HER2

Orange: EGFR-HER3

Red: EGFR-HER4

Blue: DAPI

Duolink Anti-Human PLA Probes

Duolink Anti-Human PLA プローブは、ヒト（ヒト化）抗体を認識するプローブとして開発され製品化されています。弊社内や外部機関で産生された、細胞膜表面レセプターやリガンドを標的とする複数の抗体医薬を用いた品質試験が実施されています。

主な特長：

- 生物学的ターゲットを高感度に検出
- ハイスループット化に適合

主な用途：

- リード化合物の 1 次スクリーニング
- IC50 測定
- ターゲット検証
- 概念実証試験

カタログ番号	Description
DUO92020	Duolink in situ PLA Probe Anti-Human PLUS
DUO92021	Duolink in situ PLA Probe Anti-Human MINUS

Duolink 受託サービス

お客様の目標実現のために、多様な専門技術を有する弊社を活用してください。

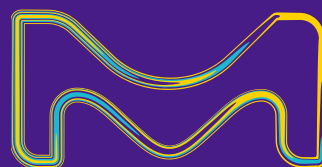
Duolink 受託サービスでは、ご期待に沿うアッセイ系を開発するために必要とされる全てのトラブルシューティングを実施します。さらに、アッセイ試験の実施においても、必要に応じてアドバイスをを行い研究促進をサポートします。

受託サービスにより得られる利点：

- アッセイ系の開発にかかる時間と費用
- 既存のアッセイ系を最適化するための時間と費用
- 研究プロジェクトにおける異なるフォーマットへの適合（組織サンプル、フローサイトメトリー、ハイスループット化、マルチプレックス化など）
- 困難な特殊試薬合成への対応
- バルク産生により削減されるコスト

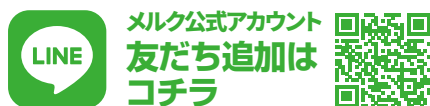
To learn more, visit

[SigmaAldrich.com/
duolinkresourcecenter](https://sigmaaldrich.com/duolinkresourcecenter)



販売取扱について：カタログ番号を青で表記している製品の取扱いはメルク株式会社、赤で表記している製品の取扱いはシグマ アルドリッチジャパン合同会社となります。
ご確認のうえ、各社へご注文くださいますようお願い申し上げます。

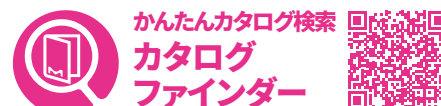
【製品の技術的なお問い合わせ（テクニカルサービス）】 <メルク製品> TEL：03-4531-1140 Email：jpts@merckgroup.com
<シグマ製品> TEL：03-6756-8245 Email：jpts@merckgroup.com



メルク公式アカウント
友だち追加は
コチラ



サイエンス系
お役立ちメディア
M-hub



かんたんカタログ検索
カタログ
ファインダー



メルクライフサイエンス公式 Facebook ページ
メルクライフサイエンス - Merck で検索



メルクライフサイエンス公式 Twitter アカUNT
メルクライフサイエンス - Merck で検索



メルクライフサイエンス - メールニュース
www.merckmillipore.jp/wm

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格（税別）です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2020年5月時点の情報です。Merck, the vibrant M are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/bio

E-mail: jpts@merckgroup.com

Tel: 03-4531-1140

CXM014-2005-pdf-H