

医学研究支援部門生物化学系に設置されたリアルタイムPCRシステムとマイクロプレートリーダーについて

渡部和浩¹⁾, 嶋村政男¹⁾, 間崎武郎^{1), 2)}, 石井敬基^{1), 2)}

Two newly introduced instruments to the Division of Biochemistry in the Medical Research Supportive Branch — Real-time PCR system and microplate reader —

Kazuhiro WATANABE¹⁾, Masao SHIMAMURA¹⁾, Takero MAZAKI^{1), 2)}, Yukimoto ISHII^{1), 2)}

1. はじめに

医学研究支援部門 生物化学系には共同利用機器としてリアルタイムPCRシステム7500Fast (ライフテクノロジーズジャパン) 及びマイクロプレートリーダーARVO MX (パーキンエルマー) が設置されているが, 平成30年5月にリアルタイムPCRシステムQuantStudio3 (ライフテクノロジーズジャパン), 及びマルチ検出モードマイクロプレートリーダーInfinite 200 PRO M plex (Tecan Japan) に更新を行った。

今回導入された機種では測定時間の短縮化や任意の測定波長が選択可能など, 共同利用機器としての利便性は向上したものとなっている。そこで今回導入されたリアルタイムPCRシステム及びマイクロプレートリーダーについて紹介する。

今回導入された機器は, リサーチセンター2階に設置されている。



図1 QuantStudio3



図2 Infinite 200 PRO

2. リアルタイムPCRシステムQuantStudio 3

QuantStudio 3リアルタイムPCRシステムは, コンパクトで誰にでも簡単に操作ができるように設計されたシステムである。クラウドベースの「Thermo Fisher Cloud」により, Webブラウザからデータにアクセス, 解析を行うことができる。

励起および蛍光フィルターを4枚ずつ搭載し, 光源として高輝度白色LEDを採用しており, ハイスループットの装置と同じ蛍光検出系を利用している。そのため高感度検出が可能であり, シングルプレックスでは1.5倍差の識別が可能である。またダイナミックレンジは10桁を実現している。

ヒートブロックは7500Fastと同様にFast PCRが可能なFast 96wellを採用している。この機種の特徴としてVeriFlexグラジエントブロックにより32ウェル×3分割で温度制御が可能である。これは今までのグラジエントブロックと異なり, それぞれの

1) 日本大学医学部医学研究支援部門
2) 日本大学医学部医学研究企画・推進室
渡部和浩 : watanabe.kazuhiro13@nihon-u.ac.jp

表 1 Quantstudio3 と 7500Fast 比較

	Quantstudio3	7500Fast
光源	白色LED	ハロゲンランプ
蛍光フィルタ枚数	励起4枚、蛍光4枚	励起5枚、蛍光5枚
検出系	CCD	CCD
Veriflex	3ゾーン	なし
ポーズ機能	あり	なし
Melt curve所要時間	5分(Fast mode)	約30分

表 2 Infini 200 PRO M Plex 対応アプリケーション

アプリケーション	ELISA、核酸タンパク質定量	FI、TRF、TRET、TR-FRET	FI、TRF、TRET ELISA 核酸、タンパク質定量	ORAC Ca+測定 細胞内蛍光測定	蛍光偏光測定	レポーター遺伝子アッセイ(DRC)
	吸光	上方蛍光	吸光 上方蛍光	上下方蛍光	蛍光偏光モジュール	発光
Infinite 200 PRO M plex	●	▲ TR-FRETは対応不可	●	●	-	●

ゾーンが独立して制御されているためより正確な温度制御が可能である。温度条件の異なる複数のプロトコルを同時に走らせることが可能であり、これにより異なるアニーリング温度を持つプライマーの最適化が容易になった。

また Melt Curve 回収が 7500Fast では 30 分以上かかっていたのに対し、Quantstudio3 では Fast モードでは約 5 分で終了し、全体のラン時間も Fast モードでは約 50 分で終了することができる (表 1)。

3. マイクロプレートリーダー Infini 200 PRO M plex

Infini 200 PRO M plex は吸光度、蛍光 (上方・下方)、発光を測定できるマルチ検出モードプレートリーダーであり、6-384 ウェルプレートでの測定が可能である。Infini 200 PRO シリーズはこれまでに 1800 件以上の論文引用実績を持つ機種である。

測定方式としてモノメータを採用しており、これまでのフィルター方式とは異なり任意の波長で測定が行えるようになった。波長範囲は吸光度で 230-1000 nm、蛍光測定では励起波長が 230-850 nm、測定波長が 280-850 nm であり 1 nm 刻みで調整することができる。これにより吸光スペクトルや蛍光の励起・測定波長のスキャンも可能であり、いつでもアッセイの最適化が行える。

オプションとして NanoQuant plate と Te-Inject モジュールが設置されている。NanoQuant plate はわ

ずか 2 ul で核酸またはタンパク質を最大 16 サンプル同時定量できるプレートである。Te-Inject モジュールは 2 本のインジェクターにより試薬を分注しながら測定が行うことができ、ルシフェラーゼアッセイ・レポーターアッセイ・Ca²⁺イオンアッセイなどが可能である。

Infini 200 PRO M plex を用いて測定することができるアプリケーションを表 2 に示した。

4. まとめ

今回新たにリアルタイム PCR システムとマイクロプレートリーダーが導入された。これまでは、リアルタイム PCR では測定時間が長く使用の間で待ち時間が生じてしまっていたこと、マイクロプレートリーダーでは測定に対応するフィルターを所持していないため利用者のニーズに十分応えられない場面も見受けられた。今回の機器導入により、リアルタイム PCR では測定時間の短縮、マイクロプレートリーダーでは任意の波長での測定が可能となったことで利用の幅が広がった。そのため、学内の幅広い利用が望まれるところである。

文 献

- 1) Thermo Fisher Scientific, "QuantStudio® 3 リアルタイム PCR システム", <<https://www.thermofisher.com/jp/ja/home/life-science/pcr/real-time-pcr/re>>

- al-time-pcr-instruments/quantstudio-3-5-real-time-pcr-system/quantstudio-3.html> (参照 2018-9-10)
- 2) Tecan, “マルチ検出モード マイクロプレートリーダー Infinite® 200 PRO”, <http://www.tecan.co.jp/products/reader_washer/microplatereader/infinite200/index.html> (参照 2018-9-10)