

生体材料工学研究所 医歯工連携実用化施設

医療機能分子開発室 (旧ケミカルバイオロジースクリーニングセンター)



特集：ケミカルバイオロジー研究を加速するハイスループット機器 FLIPR^{TETRA}®、Biomek FXのご紹介！

今年度、本施設に導入した機器FLIPR^{TETRA}®およびBiomek FXは、ユーザーのニーズに応じて様々な研究に利用できます。本号では、機器の概略をご紹介します。Biomek FXについてはセットアップに際し皆様の希望を取り入れたいと考えています。また、初級者用トレーニング (FLIPR^{TETRA}®)も予定しております。是非ご一読いただき、本施設までご意見、お問合せください。

■ **FLIPR^{TETRA}®セルベーススクリーニングシステム (Molecular Devices) のご紹介** ■

モレキュラーデバイスジャパン(株) 加藤真紀 E-mail: Maki.Kato@MolDev.com

FLIPRはセルベース機能アッセイをハイスループットに行うツールとして、製薬、バイオ業界で広く認められたシステムです。生細胞に化合物を分注しながらリアルタイムでマイクロプレート全ウェルのカインेटリック変化を同時モニターできるため、オーファンGPCRのリガンドの発見や受容体に対するアゴニスト、アンタゴニスト、アロステリックモジュレーターの探索、イオンチャネルの初期段階のスクリーニングなど数多くの実績があります。

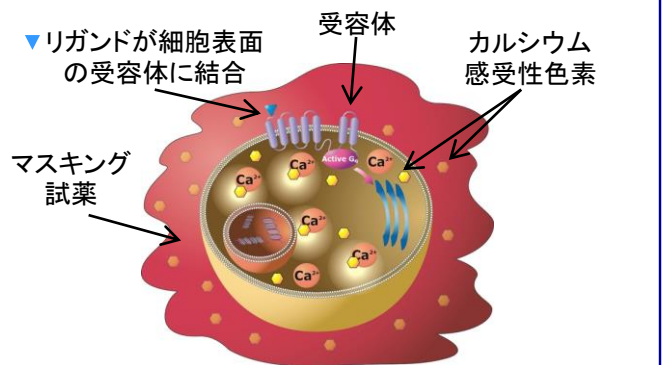
今回導入したFLIPR^{TETRA}は、従来のFLIPRの信頼性、拡張性を高めた定評のあるシステムで、多くの研究者が使いやすいモデルとなっています。システムの概要と併せて、FLIPRで測定可能なアプリケーション、モレキュラーデバイスの試薬キット (カルシウム、膜電位、ニューロトランスミッター、脂肪酸、心筋毒性)を用いたデータのご紹介も行います。また、ご希望に応じて実際の細胞を用いた実験サポートを予定しております。



FLIPR^{TETRA}® & アッセイキット

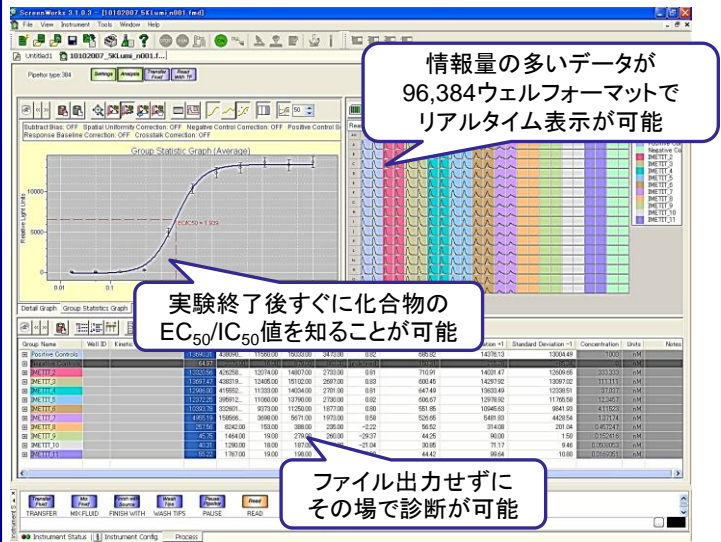
カルシウムアッセイの原理

細胞内Ca²⁺の上昇をCa²⁺色素を用いてFLIPRで測定



受容体の活性化によりカルシウムが細胞質に動員されると、あらかじめ細胞内に取り込ませたカルシウム感受性色素と結合し、蛍光強度が上昇する。従来法では細胞外の色素や培地を洗浄する必要があるが、マス킹色素を採用したカルシウムアッセイキットでは、細胞外の蛍光をマスクするため洗浄が不要で、バックグラウンドを抑えた高い蛍光シグナルが得られる。

使いやすいソフトウェア



情報量の多いデータが96,384ウェルフォーマットでリアルタイム表示が可能

実験終了後すぐに化合物のEC₅₀/IC₅₀値を知ることが可能

ファイル出力せずにその場で診断が可能

直感的でわかりやすいデザインと仕様

FLIPR^{TETRA}® 講習会を二日間にわたり開催いたします！

FLIPR^{TETRA}® の利用を検討されている方々 (若干名)には専門家による個人トレーニングも開催予定です。この機会に是非ご参加ください。

1 機器の概要説明、アプリケーションの紹介
日時：2013年12月18日 (水) 10時30分から (90分程度)
会場：22号館 (旧難研ビル) 1階・第二会議室

2 機器使用方法、ソフトウェアの説明
日時：2013年12月18日 (水) 14時から (90分程度)
会場：22号館 (旧難研ビル) 9階・スクリーニング解析室

3 初級者トレーニング (若干名)
ーサンプル作製から測定までー
日時：2013年12月18日 (水) 16時から
・細胞播種、翌日実施のアッセイの打ち合わせ等
2013年12月19日 (木) 10時から
・FLIPR^{TETRA}® を使ったアッセイおよび解析
会場：22号館 (旧難研ビル) 9階・スクリーニング解析室

参加希望の方は希望内容 (1-3) を明記し、メールにてご連絡ください。
screeningcenter.chem@tmd.ac.jp

*ご希望のアプリケーションによっては試薬キットを各自でご購入いただく場合がございます。詳細はメールにてご相談ください。



自動分注機 Biomek FX

Biomek FXはフレキシブルなハイエンドマシンであり、内部に詰め込まれた最新の機構と強力なソフトウェアは、プレートの移動から液体に合わせた最適な自動分注方法の選択まで細かな設定を自動化いたします。新しく自動化に取り組む皆様だけでなく、既存のスクリーニングを行うヘビーユーザまで幅広くご利用いただける全自動分注システムです。また、システム付属のスタッカーにプレートやチップをストックし、自動的にFXへの供給や使用済みラボウェアの回収も可能。アッセイ処理数をさらに向上させることも可能です(使用するプレートやアッセイの内容に左右されます)。

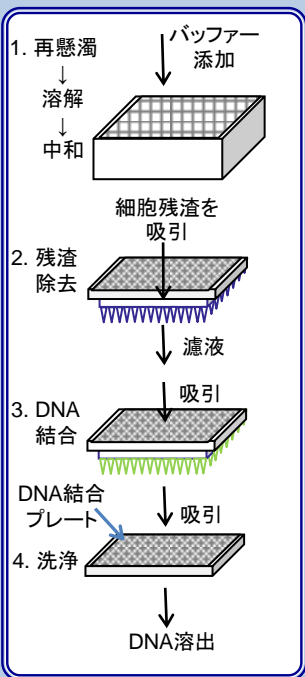
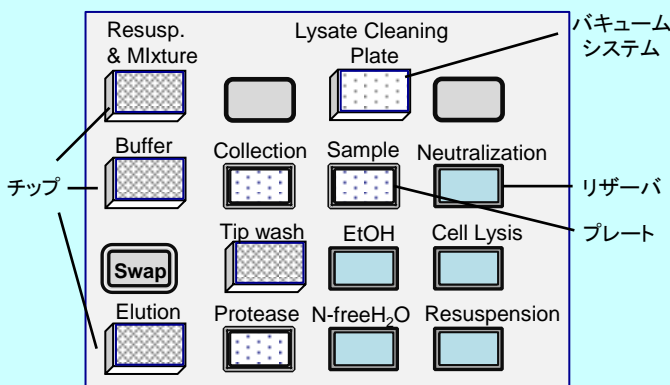
代表的なアプリケーション例)

- ・ フィルタプレートやマグネットビーズを使用するDNA抽出やシーケンス反応のセットアップ
- ・ PCR反応のセットアップおよびクリーンアップ
- ・ 次世代シーケンサーの前処理工程におけるサイズセレクション(別途 磁気ビーズ使用)
- ・ ヒットした薬物をマイクロウエルプレートから拾い出すヒットピッキングやウエル毎で濃度の違うDNAなどを一定に希釈するノーマライゼーションを簡素化

【実験例 高収量プラスミド自動抽出】

Biomek FXとプロメガ社Wizard® SV96 Plasmid DNA Purificationキットを使用することにより約40分で高品質プラスミドDNA(シーケンシング、トランスフェクション、*in vitro*転写などにも使用可能)を精製することが可能。

Biomek FX 上での試薬・プレート・チップ等の配置例



【実験操作(左図)】

培養: 菌体をディープウェルプレートにて振とう培養する。
↓
集菌: 遠心機(プレート遠心対応型)でディープウェルプレートを遠心して菌体をペレット化し、上清を廃棄する。

これ以降はBiomek FX上での自動オペレーションで実施

1. 溶解: サンプルに3種類のバッファーを加え、再懸濁→溶解→中和をピペッティングにより行う。
2. 残渣除去: Lysate Cleaning Plateで細胞残渣を吸引濾過する。
3. DNA結合: Lysate Cleaning Plateで吸引後の濾液をDNA Binding Plateに入れ、再び吸引によってDNAをフィルターに吸着させる。
4. 洗浄: 吸引ろ過により、塩類を洗浄・除去する。
5. 溶出: Nuclease-free waterでDNA Binding PlateよりDNAを溶出する。

医療機能分子開発室ではBiomek FXのセットアップに際し、学内ユーザーのニーズに合わせたオプションを検討しております。この度、学内に向けてご希望のアプリケーションを募ることにいたしました。自動化させたいアプリケーションをお持ちの方は、まずは当施設にメールにてご連絡ください。メールアドレス: screeningcenter.chem@tmd.ac.jp

東京医科歯科大学 M&Dタワーにて日本ケミカルバイオロジー学会第8回年会在開催されました



盛況なポスター会場の様子

2013年6月19日(水)-21日(金)の3日間にわたり 東京医科歯科大学 M&Dタワーにて「日本ケミカルバイオロジー学会第8回年会」が開催されました。生命科学、有機化学、アカデミア、産業界等の異なる分野の研究者が集い、活発な議論がなされました。

ポスター賞受賞者 (敬称略、発表順)

- 藤井晋也 (東京医科歯科大学)
- 藤野公茂 (東京大学)
- 吉田優 (東京医科歯科大学)
- 吉田真弓 (京都大学)
- 平山祐 (岐阜薬科大学)



受賞された皆さま、おめでとうございます!