LICORbio™

Odyssey® イメージングシステム

In-Cell Western™ アッセイ

セルベースのハイスループットなタンパク質発現解析法



株式会社スクラム

世界の価値ある技術をあなたの元に

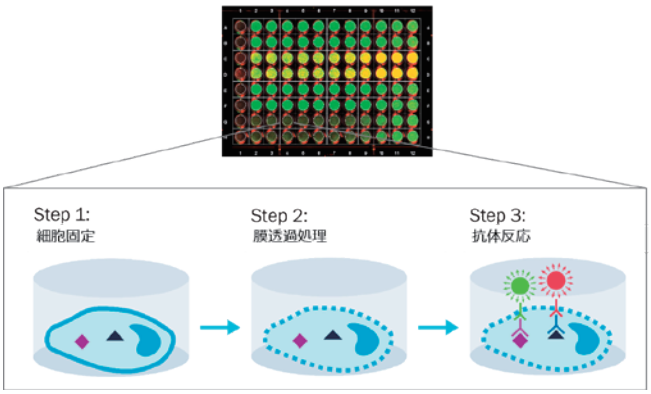
創薬研究に適したタンパク質発現解析法

タンパク質発現解析を、もっとハイスループットに、少ない手間で！

LI-COR 社が開発した In-Cell Western™ アッセイ法は、細胞培養プレートの中で蛍光免疫染色を行い、ウェルの蛍光強度を測定することによって、目的タンパク質の発現量の比較定量を行う実験手法です。タンパク質抽出などを行わずに in situ でハイスループットな発現比較解析が可能です。
リガンド刺激や RNAi による創薬標的分子の発現変化の解析、タンパク質分解薬 / mRNA 医薬品 / 核酸医薬品 / 遺伝子治療ベクターなどの薬理機能解析、ウイルスの宿主細胞感染性の解析などに最適な実験手法です。

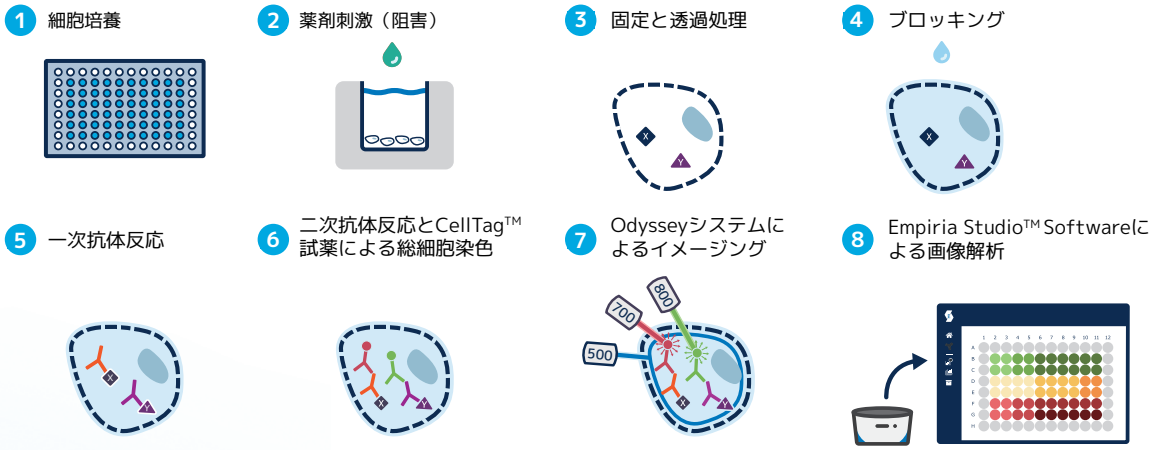
特徴と利点

- 96 ウェルあるいは 384 ウェルプレートを用いたハイスループットなタンパク質発現解析が可能
- セルベースでアッセイが可能
  （細胞回収、タンパク質抽出、電気泳動、転写などが不要）
- サンプル間のバラつきの少ないデータを取得可能
- シグナル伝達タンパク質のリン酸化など小さな発現差を正確に定量したい実験に最適
- サンドイッチ ELISA 法と異なり 1 つの特異抗体だけでアッセイが可能



ワークフロー

In-Cell Western アッセイの典型的なワークフロー例です。下図では 3 色法の実験の流れを示しています（Odyssey® F の 2 レーザーモデルの場合は最大 2 色になります）。



How to normalize ?

In-Cell Western アッセイで正確な発現比較解析を行うには、ウェル間での細胞数のバラつきを補正することが大切です。
この補正は CellTag 試薬（LI-COR 社）によりウェル中の全細胞を染色することにより行います。CellTag 試薬には 520 nm と 700 nm の 2 種類がございます。ターゲットタンパク質を CellTag と異なる波長の蛍光標識二次抗体を用いて染色し、Odyssey イメージャーによりマルチプレックス検出します。

リン酸化解析の場合は、トータルターゲットタンパク質（リン酸化 + 非リン酸化）を内部標準としてノーマライゼーションを行います。

応用例

- シグナル伝達タンパク質のリン酸化解析
- RNAi スクリーニング
- CRISPR ゲノム編集における gRNA のスクリーニング
- ウイルスの宿主細胞感染性試験
- 受容体のインターナリゼーション
- メンブレントラフィッキング
- PROTAC（タンパク質分解薬）の薬理評価
- 遺伝子治療ベクターの生物学的力価の評価
- 核酸医薬品によるタンパク質発現制御の評価
- mRNA 医薬品によるタンパク質発現制御の評価
- ゲノム編集治療によるタンパク質発現制御の評価
- 蛍光標識リガンドの標的分子結合特異性解析

など

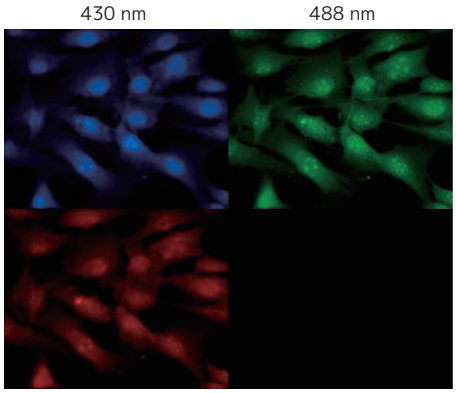
解析プラットフォーム

In-Cell Western™ アッセイでは、96/384 ウェルプレートのウェル底面に焦点を合わせて、ウェル全域を高速かつ均一に撮影することができるスキャナータイプの蛍光イメージングシステムが求められます。

また、Red、Green、Blue (RGB) などの可視波長蛍光は、細胞に由来する自家蛍光が高く、シグナルノイズ比（S/N 比）に優れた高感度な画像を取得するのが困難です。In-Cell Western アッセイで、微量に発現するタンパク質を高感度に検出するためには、700 nm 以上の近赤外蛍光を用いて撮影を行うことが重要です。

LI-COR 社の Odyssey®イメージングシステムは、これらの要求事項をハイレベルに満たすレーザースキャナータイプのイメージング装置です。 In-Cell Western アッセイには、Odyssey F イメージングシステムと Odyssey M イメージングシステムが対応しています。

装置に標準付属する Empiria Studio® Software は、In-Cell Western アッセイ専用の解析モードを備え、アッセイの最適化から目的タンパク質の発現変化の数値化とグラフ化まで、皆様の実験を強力にサポートします。



波長による細胞由来の自家蛍光の違い

イメージングシステム





	Odyssey M	Odyssey F （4 レーザーモデル）	Odyssey F （2 レーザーモデル）
2 色 In-Cell Western アッセイ	●	●	●
3 色 In-Cell Western アッセイ	●	●	―
スキャン速度 / プレート	約 5 分（2 色、解像度 100 µm）	約 4 分（2 色、解像度 169 µm）	約 4 分（2 色、解像度 169 µm）
スループット	プレート 4 枚	プレート 4 枚	プレート 4 枚

Odyssey F と Odyssey M には上記以外にも多くの違いがございます。詳しくは Odyssey シリーズの製品カタログをご覧ください。

Which primary antibodies can be used ?

細胞の免疫染色でご使用いただいている一次抗体であれば使用可能です。変性条件下でないと認識できない抗体は使用できませんのでご注意ください。On-Cell Western アッセイの場合は細胞外ドメインを認識する抗体が必要です。

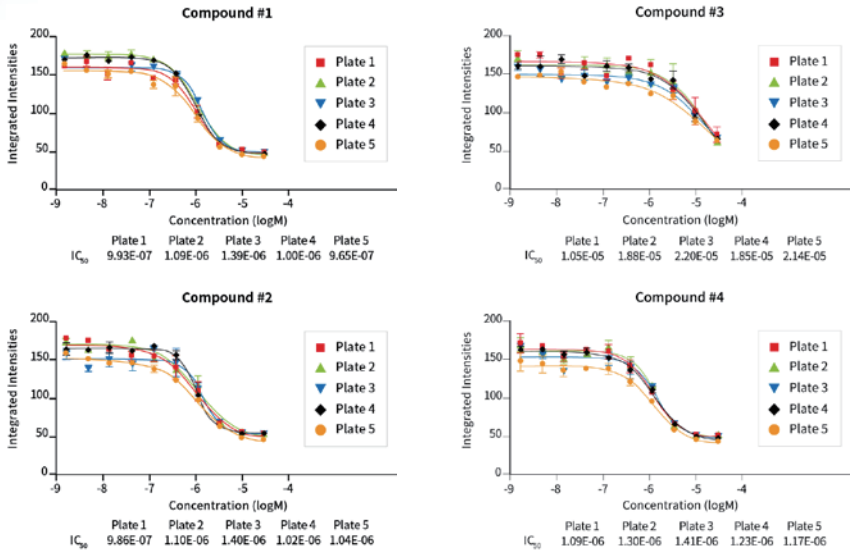
ウェスタンブロット法と異なり分子量によるタンパク質の分離を行わないので、一次抗体の特異性を事前に確認されることをお奨めいたします。

二次抗体に用いる近赤外蛍光標識二次抗体は IRDye® 標識二次抗体（LI-COR 社）がお奨めです。
様々な動物種の IgG に対する高度吸収済の二次抗体を取り揃えています。

応用例

シグナル伝達タンパク質のリン酸化解析

PDGF（Platelet-Derived Growth Factor）シグナル伝達系を阻害する 4 種類の化合物を NIH3T3 細胞に作用させ、In-Cell Western™ アッセイで Akt タンパク質リン酸化阻害の IC_{50} を算出しました。実験は各化合物につき 5 プレートで実施しました。プレート間（実験間）で優れた再現性を得ることができています。



Anal Biochem. 2005 Mar 1;338(1):136-42.

タンパク質分解薬の薬効薬理試験

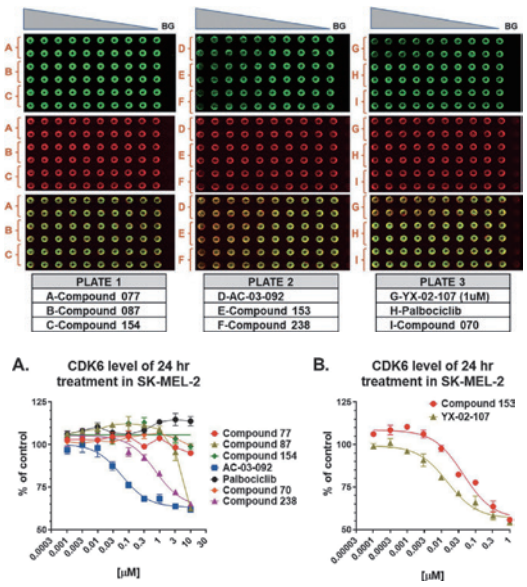
PROTAC（標的タンパク質分解誘導化合物）や Molecular Glue（分子糊）などの標的タンパク質分解薬（Targeted Protein Degrader）は、従来の分子標的治療薬では創薬ターゲットとできなかった病因タンパク質を標的にできることから近年開発が目覚ましい低分子医薬品です。

タンパク質分解薬の創薬研究における in vitro 薬効薬理試験では、細胞内標的タンパク質に対する分解誘導活性が重要な評価指標となります。

この目的では、ウェスタンブロット法やルシフェラーゼレポーターアッセイなども用いられますが、In-Cell Western アッセイ法は、標的タンパク質の分解を直接的かつハイスループットに評価できる利点があります。

右の例では、CDK6 タンパク質を標的として、2 種類の既知 PROTAC と 6 種類の新規 PROTAC の用量依存的な分解活性をテストしました。
陰性コントロール化合物として、H-Palbociclib も同時に試験しました。

標的タンパク質の発現を抗 CDK6 一次抗体と IRDye 800CW 標識二次抗体で検出し（緑）、CellTag™ 700 で染色した総細胞シグナル（赤）でノーマライゼーションしました。



Methods Enzymol. 2023:681:115-153.

Suspension cells can be used ?

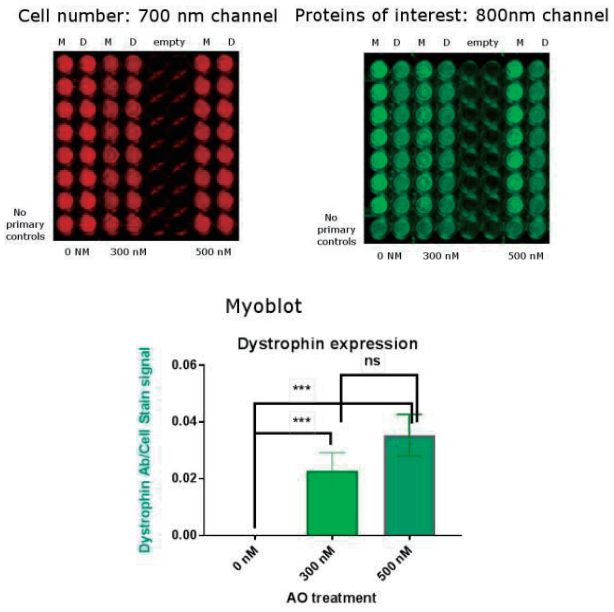
In-Cell Western アッセイは、接着細胞だけでなく浮遊細胞にも応用できます。

無血清培地に懸濁した浮遊細胞を播種したプレートを約 30 分間静置することで、浮遊細胞はウェル底面に沈み緩やかに接着します。
アッセイ中の溶液の交換やウォッシュを、マルチチャンネルピペットのチップ先端をウェル内壁につけてゆっくり行うことで、
問題なくアッセイができることがわかっています。

詳細のプロトコルについては弊社までお問い合わせください。

核酸医薬品やmRNA医薬品の薬効薬理試験

アンチセンスオリゴ核酸（ASO）、siRNA、miRNA などの核酸医薬品、あるいは mRNA 医薬品は、主に遺伝性疾患の治療のための次世代医薬品として注目され、その承認件数が増加しています。
これらの核酸医薬品や mRNA 医薬品の開発では、ターゲットとする核酸配列への特異的結合や mRNA レベルでの発現制御の評価と同時に、タンパク質レベルでの発現解析、すなわち病因タンパク質の発現抑制（ノックダウン）や欠損タンパク質の発現増強（補完）が重要な評価指標となります（注：アプタマー核酸を除く）。
In-Cell Western™ アッセイ法は、目的タンパク質の発現変動をセルベースでハイスループットに評価できるため、核酸医薬品や mRNA 医薬品の薬効薬理試験や生物学的力価試験に有用です。
右の例では、スプライシング制御核酸（SSO）の代表例であるエクソンスキッピング薬剤によるジストロフィンタンパク質の発現増強を DMD（デュセンヌ型筋ジストロフィー）患者の筋芽細胞から分化させた筋管細胞を用いて評価しました。
抗ジストロフィン一次抗体と IRDye 800CW 標識二次抗体を用いてジストロフィンタンパク質を検出し（緑）、そのシグナル強度を CellTag™ 700 による総細胞染色でノーマライゼーションしました。



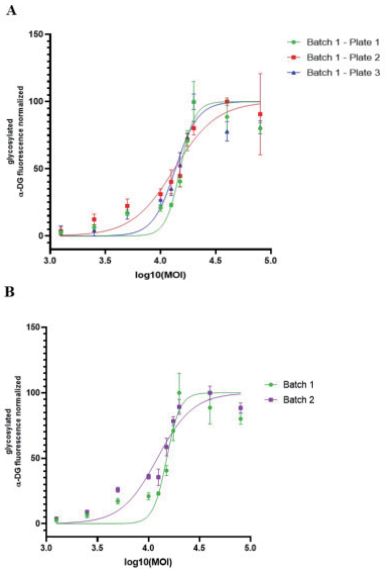
Neuropathol Appl Neurobiol. 2018 Aug;44(5):463-473.

rAAV 治療ベクターの生物学的力価の評価

アデノ随伴ウイルス（AAV）などの病原性のない（あるいは病原性を取り除いた）ウイルスベクターを用いて治療遺伝子を患者体内の導入する遺伝子治療法は、遺伝性疾患に対する持続的な治療法として有望視されています。
治療ウイルスベクター開発では、標的細胞への遺伝子導入効率と導入遺伝子の発現量（mRNA 発現）、および目的タンパク質の産生を指標としてその生物学的活性が評価されます。
右の例は、肢帯型筋ジストロフィー R9 の病因遺伝子である FKRP（Fukutin-related protein）遺伝子を CRISPR-Cas9 でノックアウトすることでα-ジストログリカン（α-DG）タンパク質のグリコシル化を抑制した疾患モデル筋細胞を用いた On-Cell Western アッセイの結果です。
FKRP 遺伝子を搭載する rAAV ベクターを異なる MOI で感染させて、グリコシル化α-DG タンパク質の発現を定量しました。

A) 同一産生バッチの FKRP 搭載 rAAV ベクターを用いてプレート間での測定再現性をテストした

B) 生産バッチの異なる FKRP 搭載 rAAV ベクターを用いてバッチ間再現性をテストした



Cells. 2023 Oct 12;12(20):2444.

How many cells should be seeded to the plate?

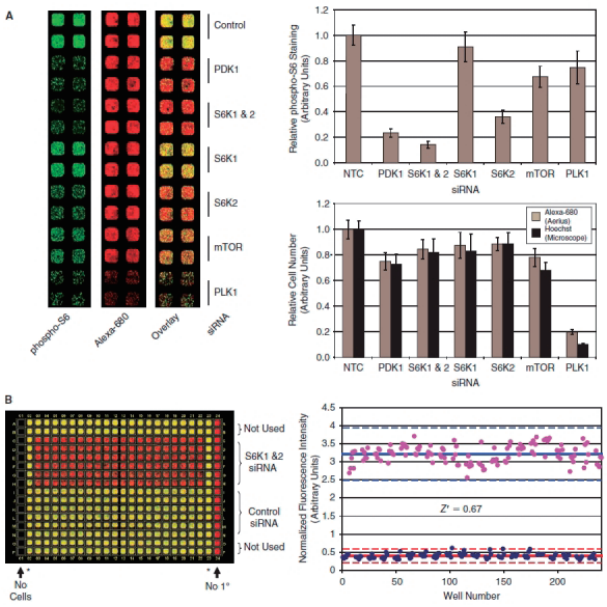
1 ウェルあたりの播種する細胞数は実験と細胞の種類によって異なります。
目的タンパク質の発現を十分な蛍光強度として検出するためには、80-85% コンフルエント程度の時点でイメージングを行うのが最適です。さらに、シグナル強度との間に直線性が得られるレンジの細胞数であること、比較するウェル間で細胞数に大きな違いがないことで優れた定量性を確保できます。
細胞はモノレイヤーであることがベストですが、ある程度までは細胞が積み重なっていてもデータを得ることは可能です。

RNAi スクリーニング

384 ウェルプレートを用いた In-Cell Western™ アッセイにより、
リポソームタンパク質 S6 に対する siRNA のスクリーニングを行った。

A) 右図 A の左は In-Cell Western アッセイの画像例。
リン酸化 S6 タンパク質を 800 nm チャンネル(緑)で、内部標準として総細胞数を Alexa 680(赤)で検出し、様々なタンパク質に対する siRNA の効果をみた。グラフの上は内部標準でノーマライズしたリン酸化 S6 の発現量の比較。グラフ下は Alexa 680 による総タンパク質染色の妥当性を Hoechst 染色のデータにより検証した結果。

B) 右図 B の左は 384 ウェルプレートの全体像を示す。
右のグラフはアッセイ系の精度を示す Z' ファクターの計算結果。
マゼンダ色のドットがリン酸化 S6 のシグナル、紺色のドットが総細胞数のシグナル。どちらの Z' ファクターも 0.5 以上であり、本アッセイが優れた精度を持つことがわかる。
※ Z' ファクターは 0.5 < Z' <1 が適正とされます。

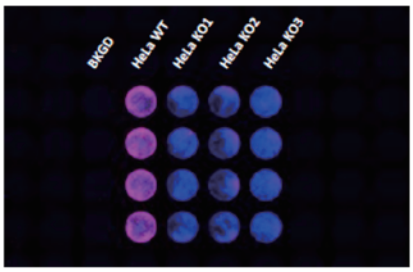


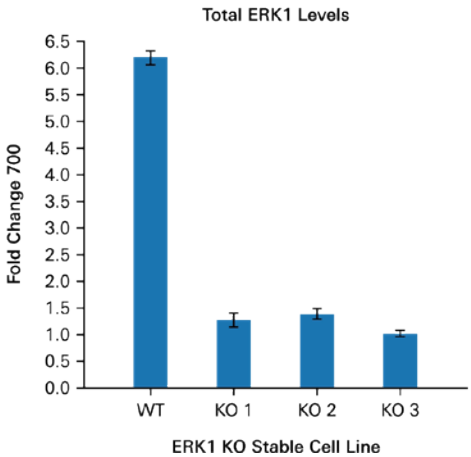
Assay Drug Dev Technol. 2010 Apr;8(2):186-99.

CRISPR/Cas9 による遺伝子ノックアウトの検証

In-Cell Western アッセイは、CRISPR/Cas9 などの遺伝子編集によるノックアウト（あるいはノックイン）の確認にも使用することができます。

下の例では、ERK タンパク質のノックアウトを IRDye® 680RD 標識二次抗体を用いて検出し(赤)、CellTag™ 520 で染色した総細胞シグナル(青)でノーマライゼーションしました。





LI-COR Internal Data

Which type of plate can be used ?

In-Cell Western アッセイには、平底クリアボトムの黒色プレートをお使いください。白色プレートはお使いいただくことができないので注意が必要です。

推奨製品は下記です。

- LI-COR 96 ウェル ICW プレート（8 枚入：926-19156、32 枚入：926-19157）
- グライナー CELLSTAR, µ Clear, 96 ウェル , マイクロプレート（32 枚入：655090）

ウイルスの宿主細胞感染性試験

ウイルスタンパク質に対する一次抗体を用いて In-Cell Western™ アッセイを行うことで、ウイルスの宿主細胞感染性の評価、あるいは中和抗体価の測定が可能です。従来のアッセイ法よりもハイスループットかつ簡便にデータを得ることが可能です。
（感染力価の直接的な算出はできないのでご注意ください）

● プラークアッセイ法との比較

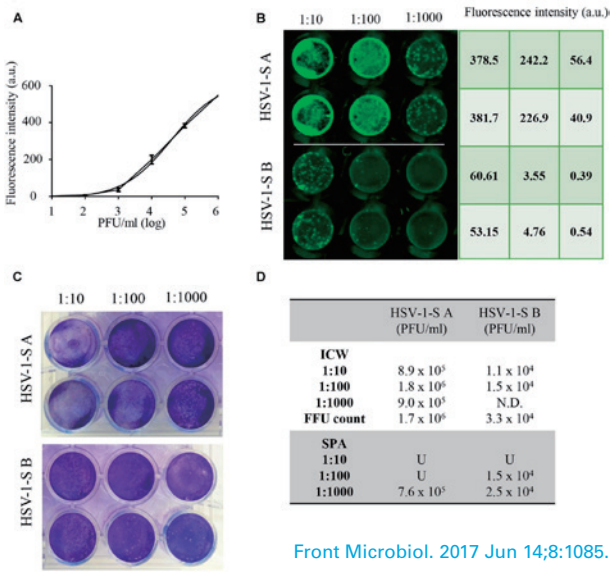
A) 既知の PFU の単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) を Vero 細胞に感染させたときの In-Cell Western アッセイの蛍光強度。プラークアッセイ法と相関があることがわかる。

B) 2 種類の未知 PFU のウイルス溶液の In-Cell Western アッセイの結果

C) B と同じウイルス溶液のプラークアッセイ画像

D) In-Cell Western アッセイとプラークアッセイの比較
U=Uncountable、N.D.=Non-Detecable

In-Cell Western アッセイ法は、プラークアッセイ法と異なり客観的な定量データを96ウェルプレートを用いてハイスループットに取得することができます。
また、宿主細胞へのウイルス感染を検出する手法のため、細胞溶解を起こさないウイルスと宿主細胞の組み合わせにもご使用いただけます。



Front Microbiol. 2017 Jun 14;8:1085.

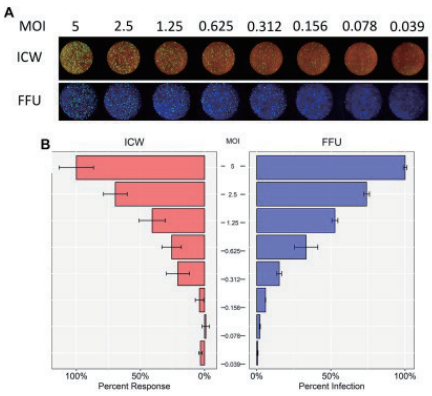
● フォーカス形成アッセイ (FFA) 法との比較

SVG-A 細胞 (ヒト胎児グリア細胞株) に JC ウイルス (JCPyV) を異なる MOI で感染させ、VP1 キャプシドタンパク質に対する一次抗体を用いた In-Cell Western(ICW) アッセイと FFA の結果を比較しました。

A) それぞれの MOI で感染させたウェルの ICW アッセイと FFA (FFU) の代表的な画像を示す。ICW アッセイでは、VP1 タンパク質を IRDye 800CW 標識二次抗体で検出し (緑)、CellTag™ 700 による総細胞染色 (赤) でノーマライゼーションした。FFA では、VP1 タンパク質を Alexa Fluor 488 標識二次抗体で検出し (緑)、DAPI 染色 (青) でノーマライゼーションした。FFA プレートの検出は蛍光顕微鏡で行った。

B) MOI=5 FFU/cell を 100% とする感染 % を ICW アッセイと FFA (FFU) で比較した。r^2=0.978 の相関性が得られた。

ICW アッセイでは、ウイルスの感染力価を直接得ることができませんが、細胞溶解を引き起こさないウイルスの感染性やウイルスに対する抗体の中和活性を従来の FFA よりもハイスループットかつ簡便に試験することができます。



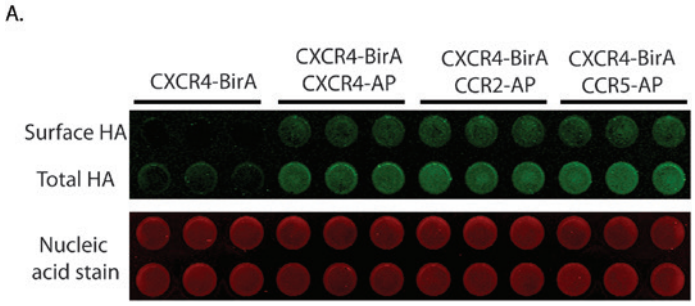
Front Microbiol. 2019 Apr 17:10:783.

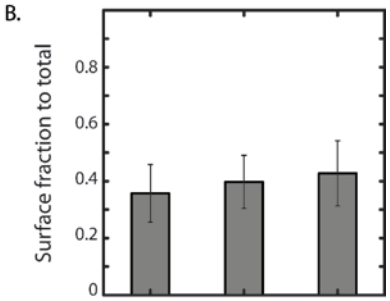
Why using Odyssey scanner?

In-Cell Western アッセイ法 (別名：Cell ELISA) は LI-COR Biotech 社が開発したアッセイ手法であり、LI-COR 社では In-Cell Western アッセイのために開発され最適化されたソフトウェアと各種のアッセイ試薬を提供しています。
また豊富なアッセイ経験による充実したアッセイ構築サポートとトラブルシューティングを提供しています。
Odyssey スキャナーは、細胞が存在するウェル底面に焦点のあったホールウェル画像を高速に取得可能です。
近赤外蛍光波長のレーザースキャニングによる優れた感度と低い自家蛍光バックグラウンド、>6 桁のダイナミックレンジにより、発現量の低いタンパク質から高いタンパク質まで大切なデータを正確に取得できます。

膜タンパク質のインターナリゼーション試験

In-Cell Western™ アッセイは細胞内タンパク質と細胞膜タンパク質のどちらも検出できるのに対し、On-Cell Western アッセイは細胞膜表面のタンパク質だけを検出します。
この 2 つのアッセイ法を組み合わせることで、受容体やイオンチャンネル／トランスポーターなどの細胞膜タンパク質のインターナリゼーションやメンブレントラフィッキングをハイスループットに試験することができます。
下図では 3 種類のケモカイン受容体（CXCR-4、CCR2、CCR5）の細胞表面および細胞質における発現をみています。





A) Surface HA ……細胞表面における発現
Total HA ……細胞内および細胞表面における発現
Nucleic acid stain ……内部標準（TO-PRO-3 染色）
※受容体は HA タグを発現するため抗 HA タグを用いてアッセイを行っています。

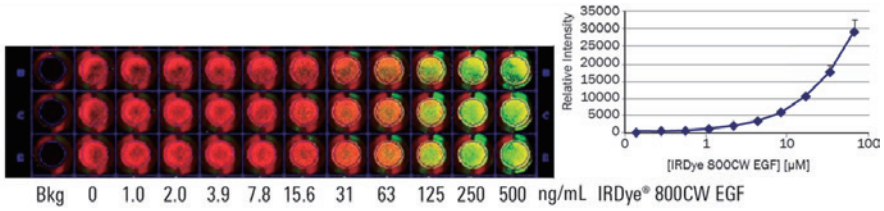
B) Total HA のシグナル強度に対する Surface HA のシグナル強度の割合。すべてのレセプターが 30-40% の割合で細胞表面に発現していることがわかる。

PLoS One. 2014 Apr 1;9(4):e93646.

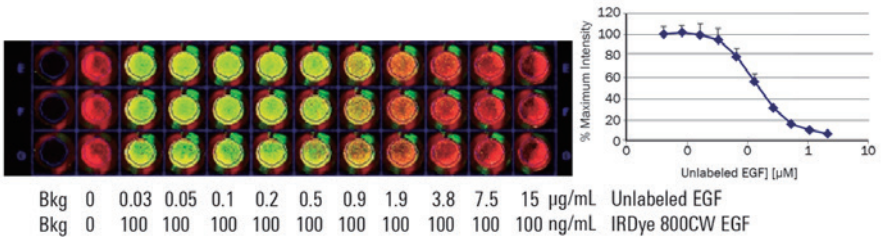
蛍光標識薬剤の標的分子結合特異性試験

蛍光ラベルしたリガンドの標的分子への結合特異性を On-Cell Western アッセイ法でテストしました。
下図の例では IRDye® 800CW で近赤外蛍光標識した EGF の EGFR に対する結合特異性を競合アッセイにより試験しています。

A) 近赤外蛍光標識 EGF の濃度をふって On-Cell Western アッセイを行った結果。
IRDye 800CW EGF の濃度が高いほど蛍光強度が高い。



B) 近赤外蛍光標識 EGF の濃度を一定にして、非標識 EGF の濃度をふってアッセイを行った結果。レセプターに対する競争阻害により非標識 EGF の濃度が高いほど蛍光強度が低い。



What is On-Cell Western assay ?

On-Cell Western アッセイは細胞表面タンパク質だけを定量するための In-Cell Western アッセイの変法です。

In-Cell Western アッセイと異なり膜透過処理のステップを行わないことで、細胞内タンパク質を染色せずに細胞膜タンパク質だけを定量します。このとき一次抗体は細胞外ドメインをエピトープとする抗体を使用します。

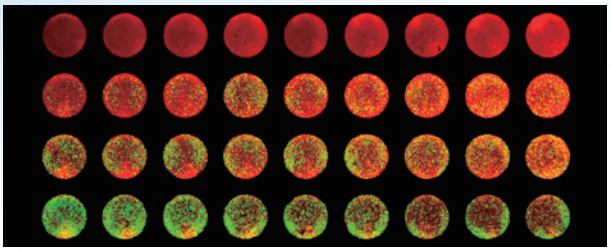
また、近赤外蛍光標識したリガンド（抗体など）の標的タンパク質への結合特異性を試験することも可能です。

蛍光タンパク質による発現解析にも

Odyssey® イメージングシステムは、蛍光タンパク質を発現レポーターとして用いるセルベースアッセイにもおすすめです。

96 ウェルプレートあるいは 384 ウェルプレートを用いたホールウェルの蛍光画像を高速に取得して、蛍光強度を元にウェル単位での目的タンパク質発現あるいはトランスフェクション効率を迅速に定量することができます。

細胞レベルでの解析はできませんが、Odyssey イメージャーによる画像を高速に取得して、目的タンパク質の発現あるいは蛍光タンパク質のトランスフェクション効率をウェル単位で迅速に定量することができます。詳細な解析を行うウェルを特定して、顕微鏡あるいはハイコンテンツイメージャーにもちこむことで、実験全体のワークフローの効率化に繋がります。



最適なトランスフェクション条件を特定するために、様々な試薬量と比率を用いて HeLa 細胞に GFP レポーターコンストラクトをトランスフェクションしました。トランスフェクション効率を評価するために、488 チャンネルの GFP シグナル (緑) を、700 チャンネルの細胞膜透過性核染色シグナル (赤) でノーマライズしました。

様々な種類の蛍光タンパク質に適合

Odyssey イメージングシステムでは、様々な種類の蛍光タンパク質に適合できます。
近赤外蛍光タンパク質 (iRFP) は細胞の自家蛍光が少ない波長を用いるため、微量発現タンパク質の高感度な検出に適しています。
特に、in vivo イメージングも含めて蛍光タンパク質の活用を考える際には優れた選択肢となります。
機種による代表的な適合蛍光タンパク質の種類は下表をご参照ください。

蛍光タンパク質	Odyssey M	Odyssey F （4 レーザーモデル）	Odyssey F （2 レーザーモデル）
M TFP1（Teal）	●	●	
GFP（wt）	●	●	
EGFP	●	●	
Emerald	●	●	
mWasabi	●	●	
ZsGreen	●	●	
EYFP	●	●	
Topaz	●	●	
Venus	●	●	
mCitrine	●	●	
ZsYellow1	●	●	
mOrange	●	●	
dTomato	●	●	
tdTomato	●	●	
dsRed（RFP）	●	●	
dsRed2	●	●	
mTangerine	●	●	
mRuby	●	●	
mApple	●	●	
mStrawberry	●	●	
mCherry	●	●	
iRFP670	●	●	●
iRFP713	●	●	●
mRhubarb713	●	●	●

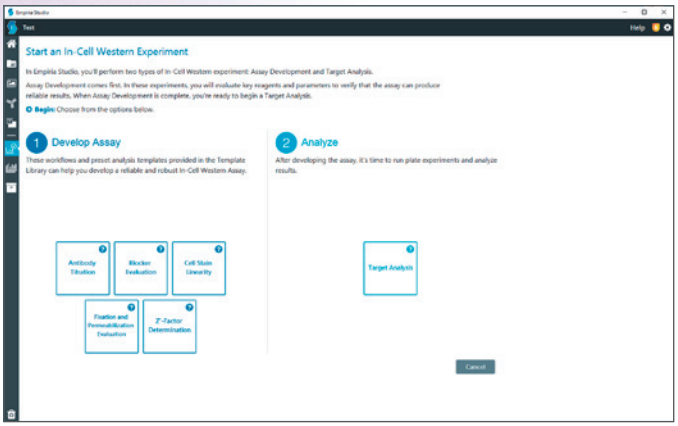
Empiria Studio® Software

Odyssey® イメージングシステムに標準付属する Empiria Studio Software には、In-Cell Western™ アッセイ (On-Cell Western アッセイ) のために最適化された専用の解析プログラムが搭載されています。

Empiria Studio を用いることで、単にウェルの蛍光強度を数値化するだけでなく、実験群間の発現比のグラフ化まで、ワンフローで行うことができます。ノーマライゼーション計算、平均値、標準偏差（SD)、CV%の算出まで自動で行うことができ、解析の時間を大幅に短縮します。

数値化のプロセスは客観性を担保できるように設計されており、解析者間によるデータのばらつきを最小限に抑えることが可能です。

また、アッセイの最適化を行うためのプログラムも搭載されており、充実したアッセイガイドブックと合わせて使用することで、In-Cell Western アッセイが初めての方でもスムーズにアッセイ系の構築を行っていただけます。



Empiria Studio ソフトウェアでは、最終的に行うタンパク質発現相対定量に加えて、アッセイ最適化のための様々な画像解析ワークフローを利用可能です。

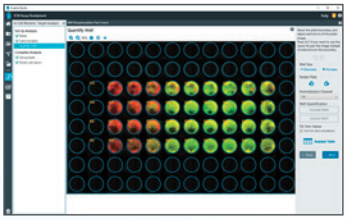
- 抗体濃度最適化
- 固定条件・細胞膜透過処理条件最適化
- ブロッキング条件最適化
- 細胞密度最適化（リニアレンジの決定）
- Z' ファクター算出



❶ プレートレイアウトのデザイン

実験を始める前に、それぞれのウェルのサンプル属性を入力します。マウスによるドラッグ操作で簡単に設定できます。予めプレートレイアウトを作ることで、実験が終わった後に最終的な発現比較データを簡単に得ることができます。

- 実験群ウェル（実験群 A, B, C・・・）
- ポジティブコントロールウェル
- ネガティブコントロールウェル
- バックグラウンドウェル



❷ グリッディング

Odyssey イメージャーで取得した画像上でウェルのグリッディングを行います。画像を見ながらどなたでも簡単に調整可能です。

このときに、ノーマライゼーションに使用する蛍光チャンネルを指定します。そのことでソフトウェアが自動的にノーマライゼーション計算を実行してくれます（ノーマライゼーション前にバックグラウンド補正も自動的に行います)。

また、必要に応じて、ウェル底面の汚れなどによる外れ値を除外することもできます。



❸ チャート作成

❶のプレートレイアウトに基づいて、ノーマライズ後のウェルシグナル強度の平均値、標準偏差、CV% が実験群ごとに自動計算されます。

同時に、ユーザーにより指定された実験群間での発現比グラフが自動で作成されます。
グラフは棒グラフとスキャッタープロットを選択できます。

数値データあるいはグラフを簡単にエクスポートすることが可能で、必要に応じて外部ソフトウェアによるさらなる統計解析に利用できます。

高品質な試薬消耗品 Re REAGENTS

近赤外蛍光および可視蛍光標識二次抗体

- 近赤外蛍光標識二次抗体（IRDye® 標識二次抗体）：
  700 nm（680RD）および 800 nm（800CW）
- 可視蛍光標識二次抗体（VRDye® 標識二次抗体）：
  488 nm および 548 nm
- 抗ウサギ / マウス / ラット / ヤギ / ニワトリ / モルモット / ヒト IgG
- 高度な交差吸収済
- 抗マウスサブタイプ IgG 抗体あり
- 抗体動物種：ヤギ or ロバ




CellTag™ 細胞染色試薬

総細胞数でウェル間のノーマライゼーションを行うための総細胞染色蛍光試薬です。
二次抗体インキュベーション時に一緒に加えて染色します。700 nm チャンネル用の CellTag 700 と 520 nm チャンネル用の CellTag 520 の 2 種類がございます（520 は Odyssey F 4 レーザーモデルと Odyssey M のみ使用可能）。




Intercept® ブロッキングバッファー

蛍光ウェスタンブロットに適したブロッキングバッファーです。プロテイン含有タイプ（通常はこちらを選択）とプロテインフリータイプがございます。それぞれに TBS ベースと PBS ベースがあります。
また、抗体希釈液としてすぐに使用できる Tween®-20 入りの製品（TBS-T および PBS-T）もございます。




Sapphire700™ 細胞染色試薬

固定細胞（あるいは死細胞）の核と細胞質を染色する蛍光試薬で、In-Cell Western アッセイの総細胞ノーマライゼーションに使用できます。
Sapphire 染色は、約 50,000 cells/well から約 250,000 cells/well までの高い細胞密度で細胞数との間にシグナル直線性をもちます。
低細胞密度領域に強い DRAQ® 試薬と組み合わせることで、広い範囲で直線性を得ることができます。
Odyssey イメージャーの 700 nm チャンネルで検出できます。
死細胞のみが染色されるため、In-Cell Western アッセイだけでなく細胞障害性試験でも使用できます。



ICW 96 ウェルプレート

In-Cell Western アッセイに適したクリアボトムの平底ブラックプレートです。
8 枚パックと 32 枚パックがございます。



In-Cell Western アッセイキット

近赤外蛍光波長で検出が可能な分子量マーカーです。
レインボーマーカーを兼ねているので目視での確認も可能です。
700 & 800 nm のミックスタイプと、700 nm および 800 nm それぞれの専用タイプがあります。



豊富な論文実績

Odyssey® イメージャーを用いた多くの In-Cell Western™ アッセイの論文が既に発表され、創薬研究、シグナル伝達研究、疾患医学を中心に、世界中の一線級の研究者に使われています。
論文例は下記の URL から検索できます。
https://www.licorbio.com/publications

Selected Publications

- Hoshino, A., Costa-Silva, B., Shen, TL. et al. Tumour exosome integrins determine organotropic metastasis. Nature 527, 329–335 (2015).
- Ruas, Margarida et al. TPC1 Has Two Variant Isoforms, and Their Removal Has Different Effects on Endo-Lysosomal Functions Compared to Loss of TPC2 Mol Cell Biol 10.1128/MCB.00113-14
- Bugaj, L. J. et al. Cancer mutations and targeted drugs can disrupt dynamic signal encoding by the Ras-Erk pathway 10.1126/science.aao3048
- Acquaviva, Jaime et al. mTOR Inhibition Potentiates HSP90 Inhibitor Activity via Cessation of HSP Synthesis Mol Cancer Res 10.1158/1541-7786.MCR-13-0605
- Gstrein, Thomas et al. Mutations in Vps15 perturb neuronal migration in mice and are associated with neurodevelopmental disease in humans Nat Neurosci 10.1038/s41593-017-0053-5
- Tomas, Alejandra et al. WASH and Tsg101/ALIX-dependent diversion of stress-internalized EGFR from the canonical endocytic pathway Nat Commun 10.1038/ncomms8324
- Bonnefond, Amélie et al. Rare MTNR1B variants impairing melatonin receptor 1B function contribute to type 2 diabetes Nat Genet 10.1038/ng.1053
- Cohen, Dena E. et al. Sirt1 mediates neuroprotection from mutant huntingtin by activation of TORC1 and CREB transcriptional pathway Nat Med 10.1038/nm.2559
- Elkabets, Moshe et al. mTORC1 Inhibition Is Required for Sensitivity to PI3K p110 α Inhibitors in PIK3CA-Mutant Breast Cancer Sci Transl Med 10.1126/scitranslmed.3005747
- Whittaker, Steven R. et al. A genome-scale RNA interference screen implicates NF1 loss in resistance to RAF inhibition Cancer Discov 10.1158/2159-8290.CD-12-0470
- Llopis-Hernández, Virginia et al. Material-driven fibronectin assembly for high-efficiency presentation of growth factors 10.1126/sciadv.1600188
- Hanks, Brent A. et al. Type III TGF-β receptor downregulation generates an immunotolerant tumor microenvironment J Clin Invest 10.1172/JCI65745
- Spangler, Jamie B. et al. Combination antibody treatment down-regulates epidermal growth factor receptor by inhibiting endosomal recycling PNAS 10.1073/pnas.0913476107
- Lay, Kenneth et al. FOXC1 maintains the hair follicle stem cell niche and governs stem cell quiescence to preserve long-term tissue-regenerating potential Proc Natl Acad Sci USA 10.1073/pnas.1601569113
- Mohamed, Ahmed A. et al. Identification of a Small Molecule That Selectively Inhibits ERG-Positive Cancer Cell Growth Cancer Res 10.1158/0008-5472.CAN-17-2949
- Asahchop, Eugene L. et al. HIV-associated sensory polyneuropathy and neuronal injury are associated with miRNA–455-3p induction JCI Insight 10.1172/jci.insight.122450
- Tanis, Sabine E. J. et al. Splicing and Chromatin Factors Jointly Regulate Epidermal Differentiation Cell Rep 10.1016/j.celrep.2018.10.017
- Sinha, Ranjeet K. et al. PAR1 biased signaling is required for activated protein C in vivo benefits in sepsis and stroke 10.1182/blood-2017-10-810895
- Wilson, Frederick H. et al. A Functional Landscape of Resistance to ALK Inhibition in Lung Cancer Cancer Cell 10.1016/j.ccell.2015.02.005
- Etheridge, Ronald D. et al. The Toxoplasma pseudokinase ROP5 forms complexes with ROP18 and ROP17 kinases that synergize to control acute virulence in mice Cell Host Microbe 10.1016/j.chom.2014.04.002
- Wall, Mark J. et al. The Temporal Dynamics of Arc Expression Regulate Cognitive Flexibility Neuron 10.1016/j.neuron.2018.05.012
- Vanhoutte, Davy et al. Thrombospondin expression in myofibers stabilizes muscle membranes eLife 10.7554/eLife.17589
- Whittaker, Steven R. et al. A genome-scale RNA interference screen implicates NF1 loss in resistance to RAF inhibition Cancer Discov 10.1158/2159-8290.CD-12-0470

LICORbio™ https://www.licor.com/bio

※ 本製品は試験研究用です。医療や診断目的にはご使用いただけません。
※ 価格、外観、仕様などは、予告なしに変更することがあります。
※ それぞれの商標や登録商標、製品名は各社の所有する名称です。

代理店

輸入元

株式会社スクラム
世界の価値ある技術をあなたの元に

東京本社
〒135-0014 東京都江東区石島2-14 Imas Riverside 4F
TEL：03-6458-6696（代表） FAX：03-6458-6697

西日本営業所
〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-3 NLC新大阪アースビル403
TEL：06-6394-1300 FAX：06-6394-8851

E-Mail：webmaster@scrum-net.co.jp

LC20260703