

Bio-Plex Pro™ Assays

測定プロトコール設定方法



初めて本キットをご使用される場合は、必ずご覧ください

お問い合わせ先:

Bio-Rad テックコール TEL: 03-6404-0331

Mail: life_ps_jp@bio-rad.com

Bio-Plex サポートウェブサイト:

<http://pdbu-support.bio-rad.co.jp/bio-plex.html>

はじめに

Bio-Plex アッセイキットを愛顧頂き、誠にありがとうございます。

弊社では日々アッセイキットの製品開発を続けており、新しい Bio-Plex アッセイキットをリリースして参ります。お使いの Bio-Plex Manager ソフトウェアがリリースした後で追加されたアッセイパネルについては、ソフトウェアに情報が登録されておりません。本資料にしたがって、測定条件の設定と測定を行ってください。

特に、一部のサイトカインキットにつきましては磁性ビーズを利用したアッセイキットに変更されており、従来販売しておりましたポリスチレンビーズベースのアッセイキットとは異なる設定を用いる必要がございます。測定の設定が誤っていると、Sampling Error が表示され、正確な測定が行えません。また、測定時間が大幅に伸び、それによりシース液が不足するおそれがあります。

対応する Bio-Plex Manager ソフトウェアのバージョン

下の表で、“プリセット済み”となっているパネルにつきましては、Bio-Plex Manager ソフトウェアにあらかじめ登録されている Panel をご利用ください。“なし”となっているパネルにつきましては、この資料の説明にしたがって設定の上、ご使用ください。

Bio-Plex Manager バージョン	Ver.6.1	ver.6	ver.5	ver.4.x
Human Cytokine Group I, II	プリセット済み	プリセット済み	なし(*1)	なし(*1)
Mouse Cytokine Group I, II	プリセット済み	プリセット済み	なし(*1)	なし(*1)
Mouse Cytokine Group III	プリセット済み	なし	なし	なし
Rat Cytokine Group I	*4	なし(*1)	なし(*1)	なし(*1)
Human Diabetes	プリセット済み	プリセット済み	なし(*2)	なし
Mouse Diabetes	プリセット済み	プリセット済み	なし	なし
Rat Diabetes	*3	なし	なし	なし
TGF- β	プリセット済み	なし	なし	なし
Human Cancer Biomarker I	プリセット済み	なし	なし	なし
Human Th17 Cytokine	なし	なし	なし	なし
これら以外にも様々なアッセイキットをご用意しております。 Bio-Plex サポートサイト< http://pdbu-support.bio-rad.co.jp/bio-plex.html >をご確認ください。				

*1 磁性化されていない(ポリスチレンビーズ)のパネルがプリセットされていますので、間違えて使用しないようご注意ください。

*2 古いバージョンのパネル (12-plex) がプリセットされていますが使用できません。

*3 誤った情報がプリセットされています。(Rat PAI-1, 正:61 誤:48)

*4 新項目が追加され、24-Plex となりました(2012/08)。

Luminex 社製ソフトウェア (xPONENT) をご利用の場合は、Bio-Plex Pro Assays キットに添付されている英文 Instruction のビーズ番号対応表に従って Protocol を設定してください。Bio-Plex Pro Assay は、Luminex 社の MagPlex ビーズの設定に準じます。その他の Luminex システムソフトウェアをお使いの場合はお問い合わせください。

測定プロトコルの設定方法

プロトコルの設定方法は2通りあります。本文書では 1) の設定手順を紹介しています。

1) 測定プロトコルのテンプレートファイルを使用する方法

- テンプレートファイルは弊社サポートウェブサイトからダウンロード可能です。
(<http://pdbu-support.bio-rad.co.jp/bio-plex.html>)
- テンプレートファイルには、項目 (Analyte) とビーズ番号 (Bead Region)、測定するビーズ数の設定 (beads per region)、ビーズの大きさを識別するためのパラメータ (DD gate value) が設定済みです。
- 使用するウェルの配置、スタンダード値、サンプル情報の設定を行い、測定を開始します。

2) Bio-Plex Manager Software に情報を登録して、利用する方法

- ソフトウェアに、項目 (Analyte) とビーズ番号 (Bead Region) を登録しておくことが可能です。
- 測定するビーズ数の設定 (beads per region) は、ソフトウェアには登録されませんので、測定の際には忘れずに変更・確認していただく必要があります。
- Bio-Plex Manager ver.4 をお使いの場合、DD gate の設定も登録されませんので、測定の際には変更・確認しておく必要があります。
- 詳細は、Bio-Plex Manager ソフトウェアの説明書を参照されるか、弊社までお尋ねください。

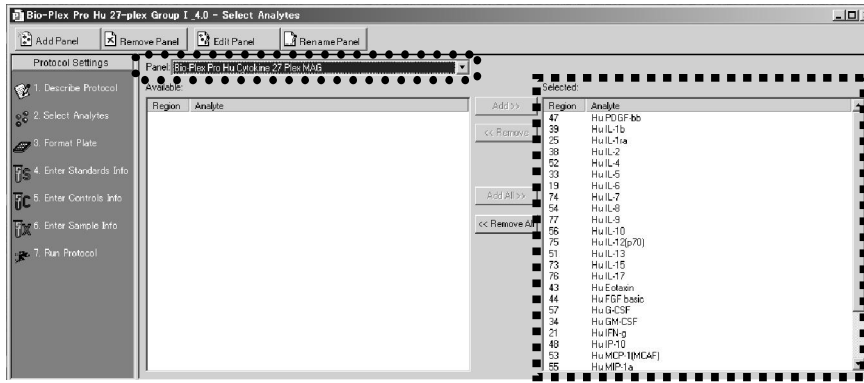
テンプレートファイルの入手

弊社のサポートウェブサイト (<http://pdbu-support.bio-rad.co.jp/bio-plex.html>) にアクセスしてください。Bio-Plex Manager のバージョンごと、また、測定パネルごとにファイルがありますので、必要なファイルをダウンロードして、Bio-Plex アッセイで使用している PC にコピーしてお使いください。ファイルは圧縮されていますので、解凍してお使いください。

テンプレートファイルの使用方法

- 1) 使用するプロトコルファイルを選択し、ダブルクリックで開きます。
- 2) Protocol Settings の **2. Select Analytes** を選択します。
- 3) **Selected:** にビーズ番号 (Region) とそれに対応する項目 (Analyte) が表示されます。
(Bio-Plex Manager ver.5 および ver.6 の場合、Panel 欄にキットの名前が表示されると同時に、プルダウンメニューに追加され、次回呼び出すことが出来るようになります。次ページ図参照)

カスタムアッセイパネル (x-Plex, x-Plex Express) など、測定しない Analyte が Select 欄にある場合、必ず Remove ボタンで取り除いてください。取り除いた状態で、“Save As...” で名前をつけてプロトコルファイルを保存しておくことで、選択状態を保存しておくことが可能です。



4) Protocol Settings の 3. Format Plate～6. Enter Sample Info までの設定を行ってください。
 これらのステップは、従来と変更はありません。操作の詳細はお使いの Bio-Plex Manager Software の
 説明書をご覧ください。

5) 7. Run Protocol をクリックします。 測定を開始するには、Start を押します。
 # Bio-Plex Manager ver.5 ないし ver.6 をお使いの場合、必要に応じて“Run at High RP1 Target”にチ
 ックを入れてください。

備考： Bio-Plex Manager ver.5 および ver.6 をお使いの場合、以降は、Panel 欄のプルダウンメニュー
 に追加されます。ただし、ver.5 をお使いの場合、7.Run Protocol のステップで、Beads:および PMT 感度
 を毎回変更する必要がありますのでご注意ください。これらの設定はキットごとに異なりますので、
 Instruction manual やクイックガイドをご参照ください。

測定前の確認のポイント

テンプレートを使用しない場合にも、次の点をご確認ください。

- 1) Beads: per region が 50(ないし適切な設定)になっていること。
- 2) Doublet Discriminator の Histogram の左下に表示される数値が、5000,25000 となっていること。
 (ポリスチレンビーズキット(従来の Phosphoprotein Assay)では 4335-10000 です。)
- 3) 測定する項目だけが Bead Map に表示されていること。

