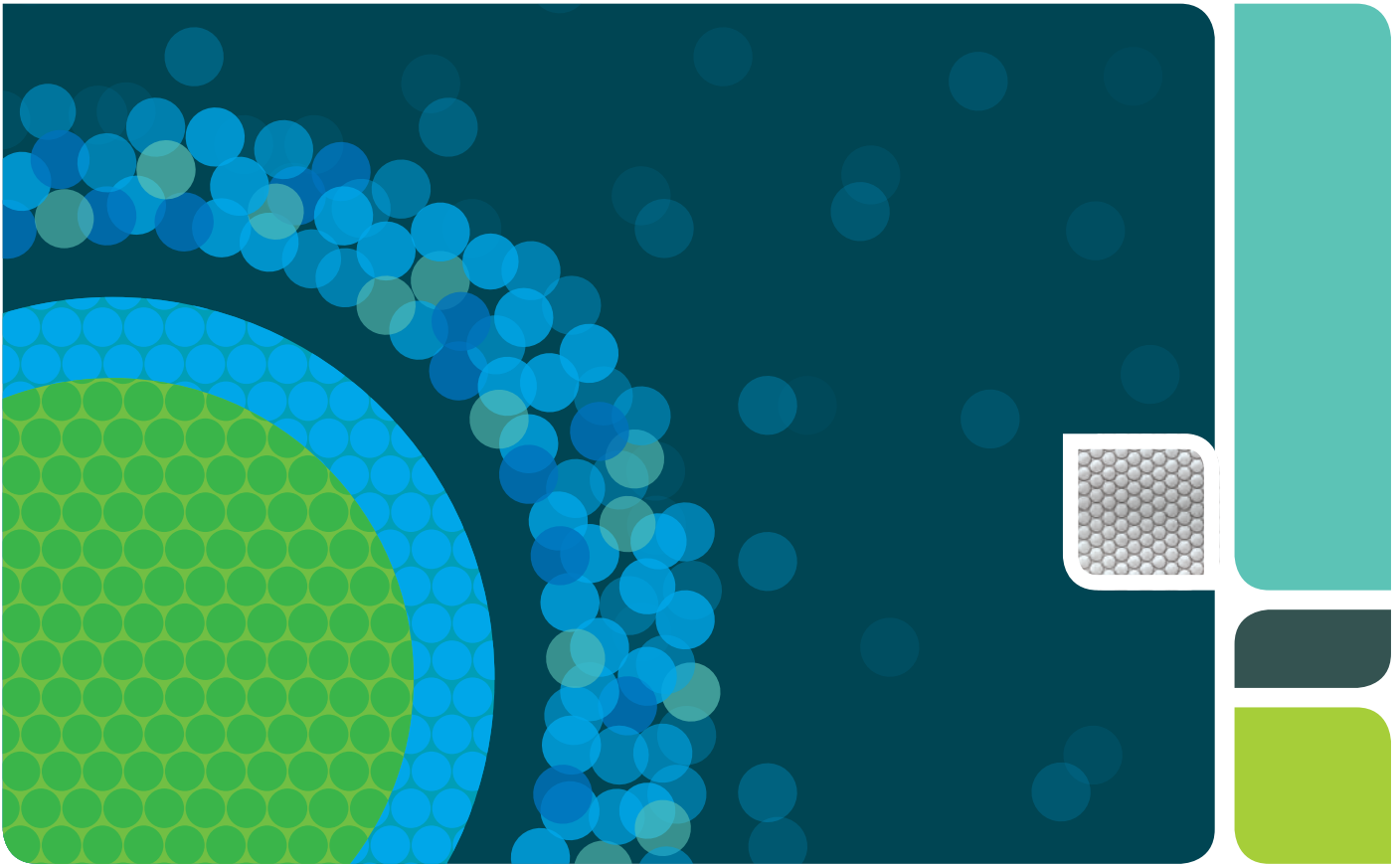




QX200™ Droplet Digital™ PCR System
QX200™ AutoDG™ Droplet Digital™ PCR System



IT STARTS WITH A
DROPLET
AND ENDS IN
DISCOVERY.



Droplet Digital PCR (ddPCR™) はバイオ・ラッドのユニークなデジタルPCR技術です。ターゲットDNA/RNAの濃度を、検量線を作成すること無く、高感度・高精度に絶対定量することができます。QX200 ddPCRシステムは、研究を新たなステージへ進めるための技術を提供いたします。

デジタルPCRは、サンプルを微小区画に分割した上で、各微小区画のPCR産物を検出し、統計解析を行ってDNAを定量する方法です。微小区画作成の際には、先進的なマイクロ流路技術を使用することにより、1ウェル当り約20,000個の非常に均一な液滴（ドロップレット）を作成します（ドロップレットの大きさは約1ナノリットルです）。また、複数のウェルのデータをソフトウェア上で統合することにより、より高い精度を実現することができます。このように、サンプルを非常に多数の区画に分割して解析することにより、今まで以上に高感度・高精度な定量を行うことが可能となります。

さらにドロップレット作成を自動化できるAutomated Droplet Generator (AutoDG™) システムがラインナップに加わり、QX200 ddPCRシステムのプラットフォームは、拡張性・安定性・スループットにおいて、より強力な研究ツールとしてご利用いただけます。

バイオ・ラッドのddPCRテクノロジーは既に、がん・感染症・遺伝子発現等の研究において数多くの論文に掲載されています。今後も新しい発見へのddPCRテクノロジーの応用が期待されます。

WHAT IS DIGITAL PCR PRINCIPLE



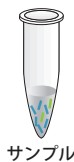
デジタルPCRとは？

デジタルPCRは従来のリアルタイムPCRに比べてはるかに高精度、高感度に定量を行う新しい技術です。定性のみの通常PCR、検量線による相対定量のリアルタイムPCRに対して、絶対定量を行うデジタルPCRは第3世代のPCRと言われています。

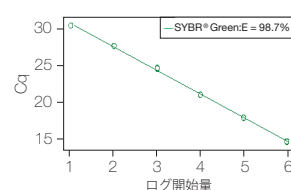
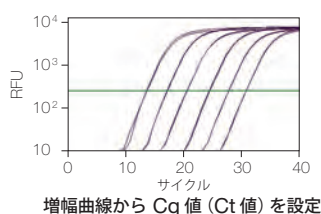
デジタルPCRはリアルタイムPCRと全くコンセプトが異なり、限界希釈（各微小区画にターゲットDNAが1または0となるような希釈）したサンプルDNAを微小区画内に分散させてPCR増幅を行います。これによってターゲット遺伝子を含む微小区画では増幅シグナルがポジティブとなり、ターゲット遺伝子を含まないもしくはサンプルDNA自体を含まない微小区画では増幅シグナルがネガティブとなります。ポジティブの微小区画の数を直接カウントすることでサンプル中のターゲット遺伝子濃度を絶対的に測定します。

* 緑線がターゲット遺伝子を含むDNA断片

【リアルタイム PCR】



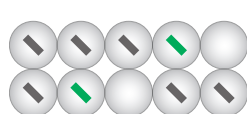
多数の DNA 断片が混在している状態で PCR



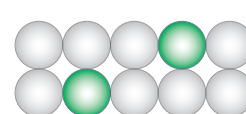
【デジタル PCR】



各微小区画に DNA 断片が 1 または 0 になるように希釈 (限界希釈)



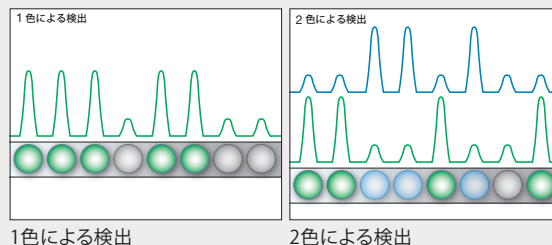
PCR 増幅 (飽和まで増幅可能)



ポジティブな微小区画数を直接カウントし、サンプル中のターゲット遺伝子濃度を算出

なぜデジタルPCRなのか？

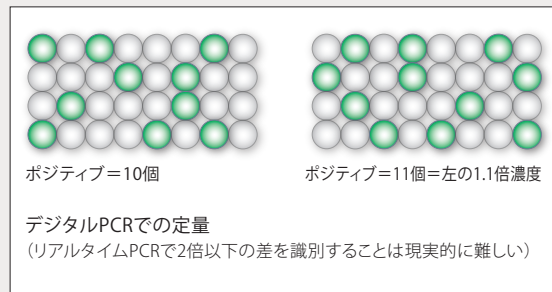
デジタルPCRのデータは微小区画ごとにポジティブかネガティブかのどちらかになり、これをデジタル信号の1/0に見立てることによって“デジタル”と呼ばれています。



デジタルPCRの利点とは？

デジタルPCRはリアルタイムPCRに比べて、以下の利点があげられます。

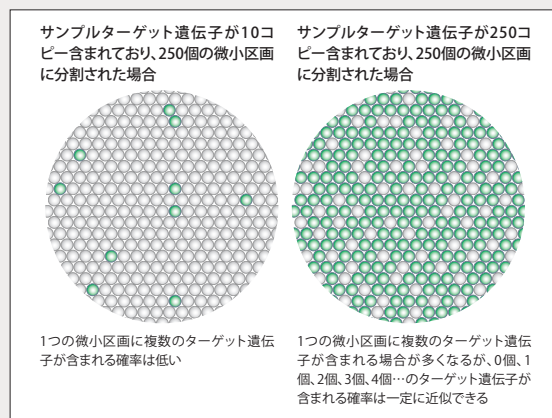
- PCRの増幅効率に左右されない。(飽和するまで増幅が可能)
- 限界希釈を行うため、サンプル中のPCR阻害要因を軽減できる。
- 検量線を必要とせず、絶対的な定量を行える。
- ポジティブな微小区画数を直接カウントするため、定量精度が高い。
- PCR阻害要因の軽減と飽和するまでの増幅によって高い感度を得られる。



デジタルPCRにおけるポアソン分布の利用

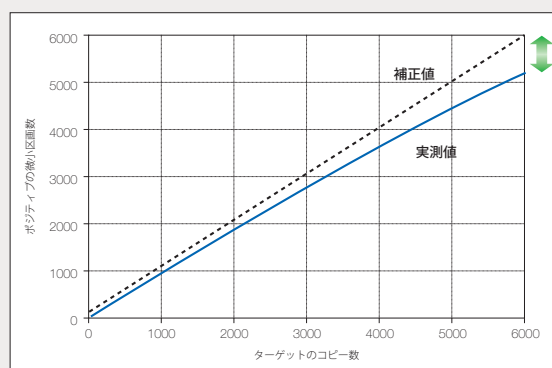
デジタルPCRではサンプルの単位容量あたりにターゲット遺伝子が何コピー存在するかを算出しますが、限界希釈であっても微小区画あたりの断片数が1以上になる場合があります。

これを補正するため、ポジティブの数と微小区画の数をポアソン分布にあてはめて最終濃度を算出します。ポアソン分布は独立した事象の発生確率が一定の分布を示すことに基づいていますが、デジタルPCRで考えると右図のようになります。



ポアソン分布に基づく測定値の補正

サンプル中のターゲット遺伝子コピー数が多くなるほど、複数個のターゲットを含む微小区画も増加するので、これをポアソン分布で補正してコピー数を算出します。ポアソン分布での補正はソフトウェアにより自動的に算出されます。



デジタルPCRのアプリケーション

デジタルPCRは特に以下のようなアプリケーションで、これまでのリアルタイムPCRでは困難であったレベルの高精度、高感度の解析を可能にします。

- CNV (Copy Number Variation)
- mRNA, miRNA 定量 (高精度定量、低コピー数定量)
- Rare mutation / Rare sequence 検出
- Single cell など、微量サンプルでの定量

WHAT'S IN A DROPLET?

AN ELEGANT FAST EXPERIMENT PROCEDURE



デジタルPCRのワークフロー

Droplet Digital PCRの実験手順は、シンプルかつユーザーフレンドリーなものです。QX200 Droplet Generatorを用いた場合、各手順は8サンプル単位で行うことができます。またAutomated Droplet Generatorを用いた場合は、96サンプルまでのドロップレット作成を自動で行う事が可能です。96サンプルの実験の所要時間は約5時間です。また、更に高いスループットを求められる方は、複数回の96サンプルの実験を1日で行うことも可能です。

バイオ・ラッドのQX200 ddPCRシステムは、マイクロ流路技術により、微小区画としてwater-in-oilのドロップレット(エマルション)を作成します。QX200システムは主に2つの機器(Droplet GeneratorとDroplet Reader)および、関連する試薬・消耗品により構成されます。Droplet Generatorにより、1サンプルあたり約20,000個のナノリットルサイズのドロップレットを作成します。それぞれのドロップレットには、ターゲット遺伝子やバックグラウンドのDNAが含まれます。各サンプルのドロップレットを96ウェルのプレートに移した後、サーマルサイクラーを使用してPCRにより目的産物をエンドポイントまで増幅します。PCRの後、96ウェルプレートをDroplet Readerにセットし、シースフローにより一つ一つのドロップレットを流路内で移動させ、蛍光を検出します。ドロップレット内にDNA/RNAのターゲットを少なくとも1コピー含む場合は、ターゲットを含まないドロップレットよりも高い蛍光が検出され、ポジティブとしてカウントされます。ポジティブなドロップレットの数を測定し、ポアソン分布に当てはめることにより、サンプルの濃度を算出します。

QX200 ddPCRシステムは、TaqManプローブとEvaGreenの両方を測定することができ、1ウェル当り1サンプルを使用する場合には1回の実験で96サンプルという高スループットの実験を行うことができます。また、複数ウェルで1サンプルを測定することにより、更に高感度な測定を行うことができます。



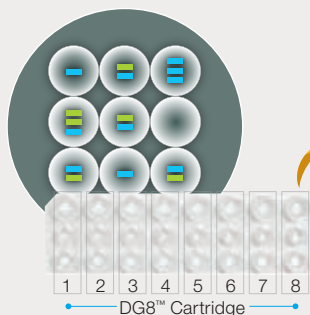
KEY BENEFITS

- 検量線を作成することなく、絶対定量を行うことができます
- ハイスループットの実験を行うことができます
- TaqManプローブとEvaGreen両方のケミストリーに対応しています



1 サンプル調製

- DNAサンプル、プライマー、バイオ・ラッド製 ddPCR Supermix (および、プローブ検出を行う際はプローブ) を混合します



2 ドロップレット作成 (2分/8サンプル)

- 専用カートリッジに調製したサンプルおよび専用オイルを分注します
- カートリッジをセットした後、1 サンプルにつき 20,000個のドロップレットを作成します
- これによりターゲットDNA (■) とバックグラウンドDNA (■) がランダムに各ドロップレットに分散します

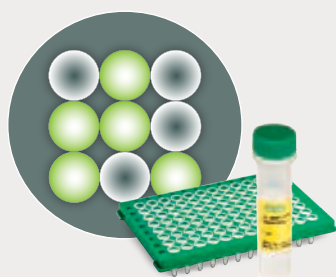


QX200 Droplet Generator

or



Automated Droplet Generator

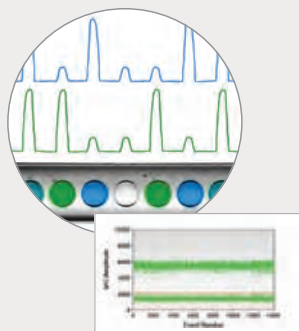


3 PCR

- 2にて専用カートリッジの各ウェルで作成したドロップレットを、96ウェルのPCRプレートの各ウェルに移し、シーリングを行います
- その後、PCRを実施します

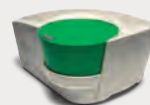


C1000 Touch
サーマルサイクラー



4 ドロップレット蛍光測定 およびデータ解析 (2.5時間/96サンプル)

- PCR終了後、96ウェルPCRプレートをQX200 Droplet Readerにセットします
- 各ウェル内のドロップレットの蛍光を測定し、'positive' 'negative'を判定します
- QuantaSoft™ソフトウェアを使用し、各サンプルの濃度(コピー/μl)を測定します



QX200 Droplet Reader

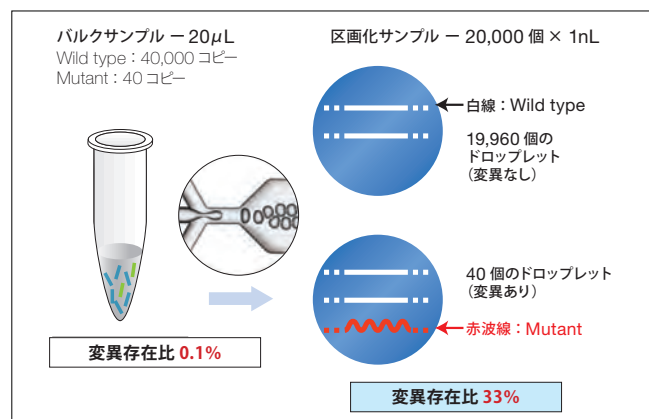
ACCURATE DETECTION OF RARE MUTATION



遺伝子変異の研究は、がん・遺伝子疾患・感染症など、数多くの研究分野において行われており、リアルタイムPCRを用いたプローブアッセイが広く用いられています。

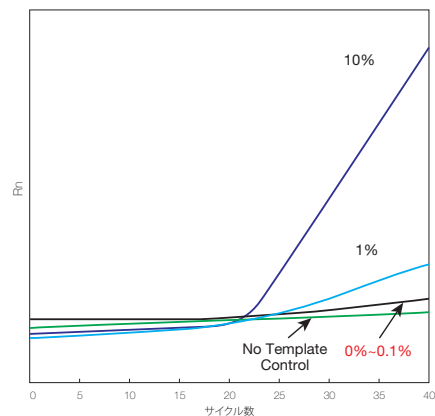
リアルタイムPCRを用いた手法では、均質なサンプル中における、存在比率の高い変異の検出（例：SNP解析）は比較的容易に行うことができます。しかし、変異遺伝子の存在比率が少なくなるに従い、変異の検出は困難さを増します。例えば、大部分が正常細胞である生検サンプルや、変異を持つ異常細胞がごく微量に存在する血液サンプルを用いた分析では、バックグラウンドが非常に大きいため、微量のターゲット遺伝子を定量することは困難になります。しかし、デジタルPCRを用いればサンプルを多数の微小区画に分割し、一区画当りの変異存在比を上昇させることにより、このような問題を解決することができます。よってデジタルPCRは存在比率が少ない遺伝子変異のバイオマーカー検出として強力なツールとなります。

デジタルPCRを用いたMutant検出の原理

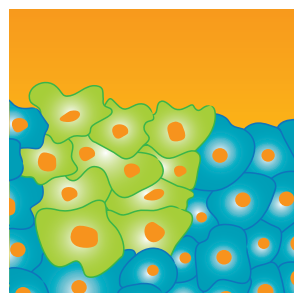


QX200 Droplet Digital PCRシステムを用いた解析では、サンプルを多数の微小区画に分割し、一区画当りの変異存在比を上昇させることにより、バックグラウンドに埋もれることなく微量のターゲット遺伝子を検出することが可能になります。

リアルタイムPCRを用いたプローブアッセイでのMutant検出結果



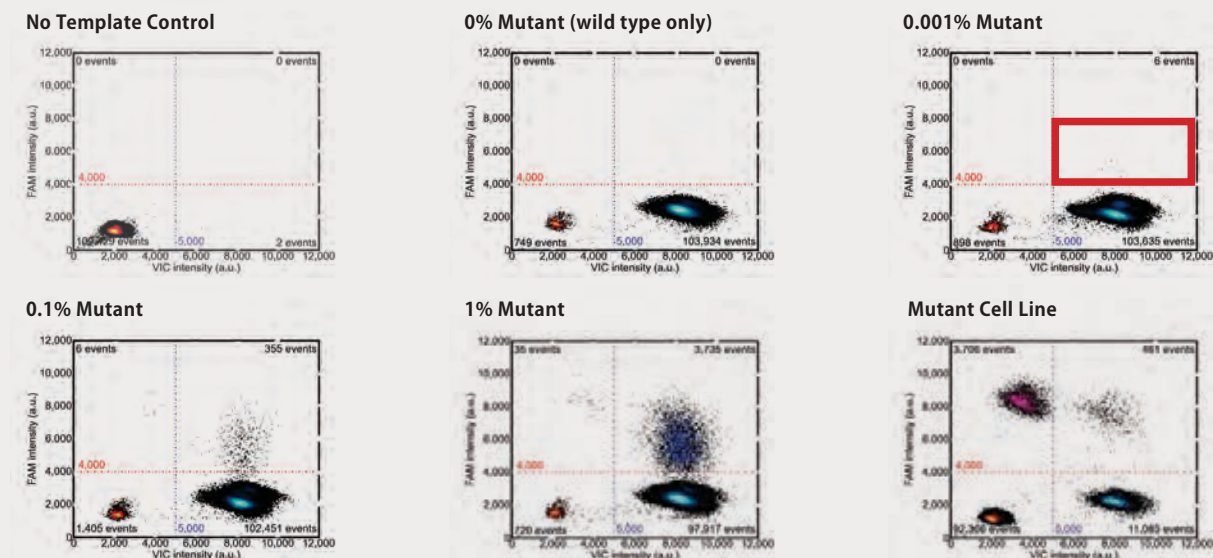
実際、リアルタイムPCRを用いたプローブアッセイでは、存在比1%未満のmutantのアッセイは困難です。



SUCCESS STORY

肺がんの治療に重要なEGFR (epidermal growth factor receptor)遺伝子のT790M変異検出は、チロシンキナーゼ阻害剤を使用した治療への耐性を検出するバイオマーカーとして極めて重要です。しかし、従来の他技術は野生型のEGFRの高いバックグラウンドの中でT790Mアレルを測定するのに必要な感度を有していませんでした。ddPCRを使用することにより、T790M濃度を正確に測定するためのアッセイを構築することができました。

数多くのがんにおいて変異が確認されているBRAF V600Eの検出を実際に行ったところ、0.001%オーダーの変異の検出に成功しました。これは、リアルタイムPCRの100~1,000倍の感度に相当します。

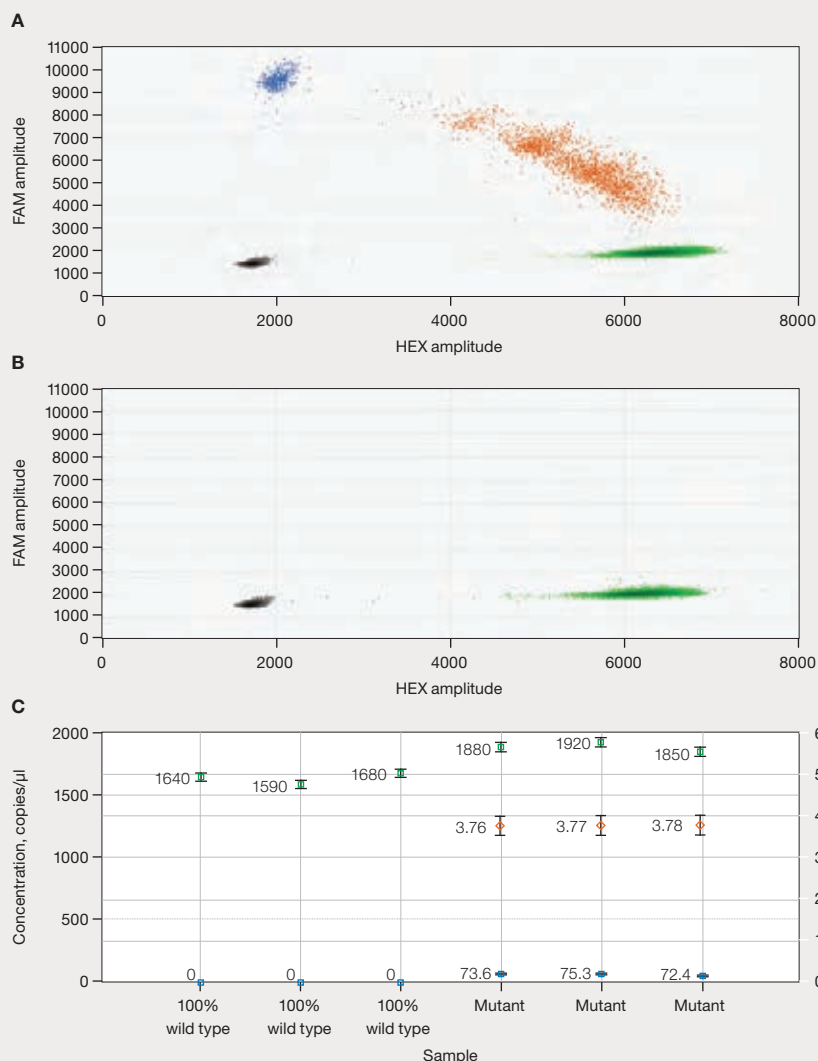


BRAF V600Eをターゲットとした変異検出結果

TaqManプローブを用いたduplex PCRにより変異検出を行った。

FAMプローブのターゲット遺伝子: BRAF V600E, VICプローブのターゲット遺伝子: wild type 0.001%オーダーのMutantの検出に成功した。(上図赤枠部分)

QX200 ddPCRおよびPrimePCR ddPCR assay (Cat#1863100) により野生型DNAの存在下でBRAF V600Eの検出を行ったアプリケーション例



A. 野生型/変異型の混合物のトリプリケートをQuantaSoftソフトウェアの2Dプロットを用いて解析した。黒色のクラスターはネガティブなドロップレット、緑色のクラスターは野生型DNAのみポジティブなドロップレットを示す。また、青色のクラスターは変異型のみポジティブなドロップレット、オレンジ色のクラスターは野生型/変異型共にポジティブなドロップレットを示す。

B. 野生型のトリプリケートを解析した結果。野生型DNAのみポジティブなドロップレットが検出された。

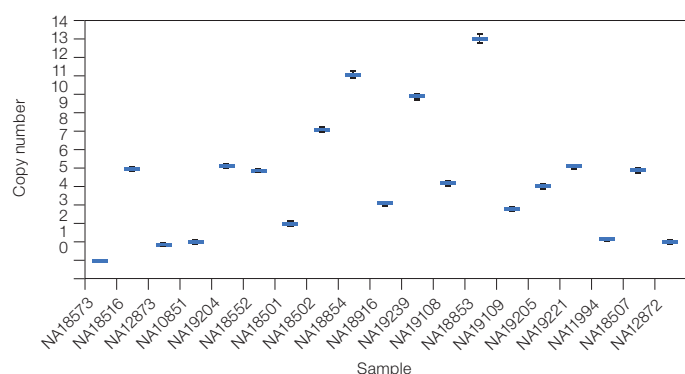
C. 野生型DNAのバックグラウンドに対する変異型DNAの割合を測定した。青色のマーカーは変異型のDNAの濃度(コピー/μl)、緑色のマーカーは野生型のDNAの濃度(コピー/μl)を示す。また、オレンジ色のマーカーは変異型DNAの割合を示す。サンプルはトリプリケートで測定した。QuantaSoftソフトウェアで測定したエラーバーはポアソン分布算出の95%信頼区間を表す。

VARIOUS APPLICATIONS

COPY NUMBER VARIATION DETECTION



ゲノムDNA中で、比較的長い領域 (1kbp以上) でコピー数が異なることをコピー数多型 (CNV : Copy Number Variation) と呼びます。CNV は疾患感受性、薬剤感受性等の形質に関与しています。またがん細胞でも染色体異常によるコピー数の変異が起きていることが知られています。リアルタイムPCRを用いてCNV解析を行った場合、適切な実験条件下においては、1コピー〜3コピーを区別することは可能です。しかし、コピー数が高い領域ではコピー数別のCq値の違いが小さいため、リアルタイムPCRの精度では識別が難しく、正確な測定を行うことは困難です。しかし、デジタルPCRは1.1倍の希釈系列を絶対定量できる精度を有するため、このような問題を解決することができます。



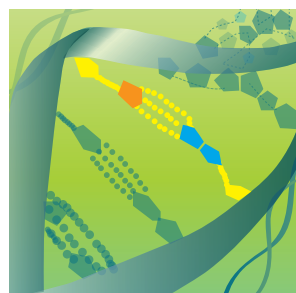
例えば、リアルタイムPCRでは、5コピー対6コピーではCq値で0.25サイクルの差、7コピー対8コピーでは0.15サイクルの差しかありません。しかし、デジタルPCRはこのような問題を解決することができます。QX200 Droplet Digital PCRシステムは、1.1倍の希釈系列を絶対定量できる精度を有するため、10コピーを超えるコピー数でも識別できます。

CCL3L1遺伝子の定量結果

CCL3L1遺伝子に関して、1~13までのコピー数を識別した。サンプルNA18507のコピー数については、次世代ゲノムシーケンシングを用いた際には5.7と算出されていた*が、QX200 Droplet Digital PCRシステムでは6.05とより整数に近い値で算出した。サンプルはCoriell Instituteより入手した。エラーバーはポアソンの信頼区間 (CI) を示す。

*Alkan C et al. (2009). Nat Gen 41, 1061-1067.

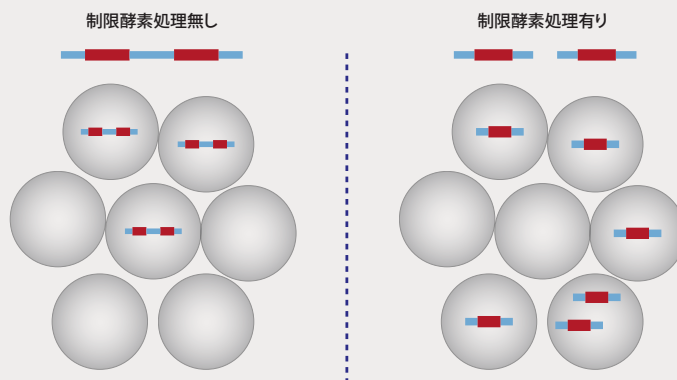
更に、デジタルPCRと制限酵素を組み合わせることにより、リアルタイムPCRでは困難な、遺伝子のコピーが別々の染色体にあるのか／同じ染色体にあるのか (タンデムコピーなのか) の解析することも可能です。



SUCCESS STORY

ヒトの脳のサイズの進化に関連する重複遺伝子の研究者は、サンプル間のコピー数の小さな差を同定する手法を必要としていました。ddPCRは今まで用いられてきた他の手法よりも、小さなコピー数の差を高精度かつ再現性良く測定することができました。これらCNV定量における精度の改善は、大頭症/小頭症・統合失調症・自閉症等の神経遺伝疾患において、より複雑な研究を成功させる可能性を秘めています。

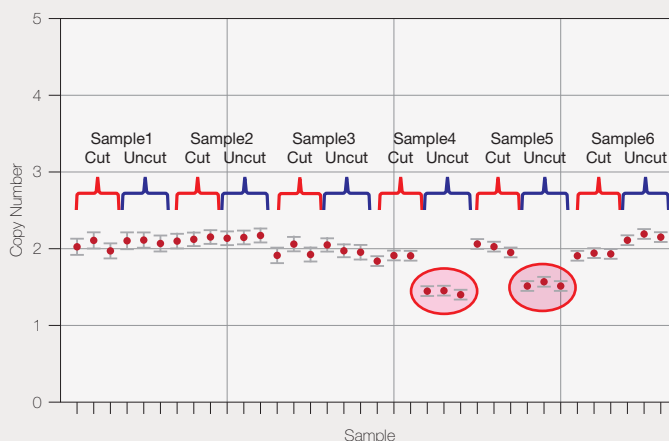
例えば、測定結果が2コピーで正常に見えるケースでも、実はタンデム+欠失キャリアの組み合わせという異常なケースが存在します。そこで、制限酵素処理の有無で測定結果を比較します。タンデムコピーを含むサンプルをデジタルPCRで測定した場合、制限酵素処理を行う前は制限酵素処理を行った後と比較して、DNA断片が含まれる微小区画数が少ないため、コピー数の測定結果が少なくなります。



タンデムコピーを含むサンプル特定の原理

制限酵素処理を行っていないサンプルのコピー数は、制限処理を行ったサンプルのコピー数よりも少なく測定される。

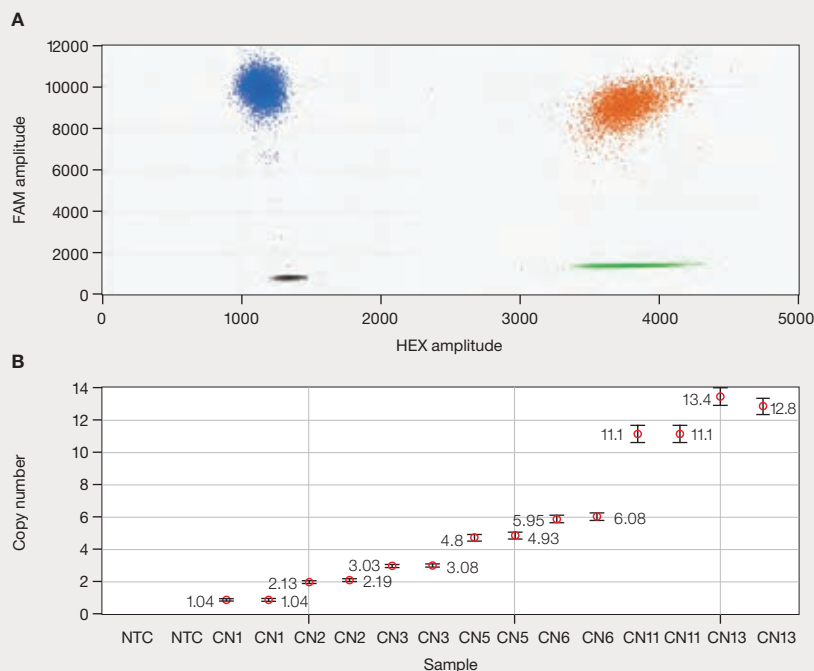
実際にMRGPRX1遺伝子に関し、6つのサンプルを用いて制限酵素処理の有無でコピー数を比較し、タンデムコピーを含むサンプルの特定に成功しました。



タンデムコピーを含むサンプルの特定結果

Sample4, Sample5で、制限酵素未処理サンプルのコピー数が少なくなっており、タンデムコピーを含むことが示された。

QX200 ddPCRにより1コピーから13コピーまで検出したアプリケーション例



A. myelocytomatosis oncogene (MYC) 遺伝子と β -globin (HBB) 遺伝子に関して、コピー数=6のサンプルをduplexで測定した。黒色のクラスターはネガティブなドロップレット、緑色のクラスターはMYC遺伝子のみポジティブなドロップレットを示す。また、青色のクラスターはHBB遺伝子のみポジティブなドロップレット、オレンジ色のクラスターはMYC遺伝子/HBB遺伝子共にポジティブなドロップレットを示す。

B. 1~13までのコピー数をduplexで定量した結果。QuantaSoftソフトウェアで測定したエラーバーはポアソン分布算出の95%信頼区間を表す。NTC : no template control.

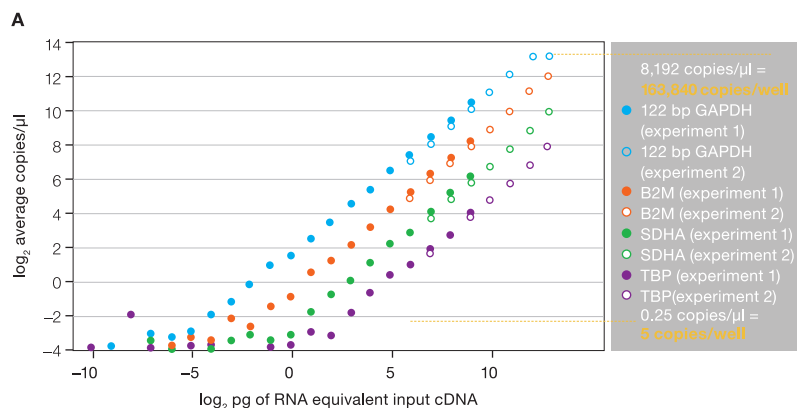
NGS

VALIDATION AND LIBRARY QUANTIFICATION



バイオ・ラッドのddPCRは、NGS(次世代シーケンサー)のライブラリを正確に定量することができます。高精度な定量に加え、QX200システムのデータからは、ライブラリの質に関しても多くの情報を読み取ることができます。これは既存の手法では困難です。ddPCRを用いたライブラリ定量は、NGSの効果的な使用に貢献することができます。また、NGSのランを終えた後も、ddPCRをSNPs・変異・CNV等に関するNGSの測定結果のバリデーションに使用することが可能です。

RNA-Seqと比較して非常に高い感度と増幅バイアスのない結果を示すアプリケーション例



A. バイオ・ラッド製 iScript™ Advanced cDNA Synthesis Kitを使用して作製したcDNAを、2倍希釈で定量した。2つの独立した実験を実施した：1つは高濃度側、もう1つは低濃度側にて実験を行い、4点についてはオーバーラップさせた。この結果により、ddPCRは高濃度側・低濃度側の両濃度において高い定量性があることを示せた。

B

Gene	ddPCR, copies/well		MiSeq, RPKM			
	100 ng RNA 4 replicates	1,000 ng 4 replicates	100 ng 2 replicates		1,000 ng 2 replicates	
GAPDH	1,671 ± 115*	16,275 ± 479*	974	953	1,077	1,061
B2M	504 ± 46*	3,450 ± 155*	233	251	229	237
SDHA	139 ± 14*	1,131 ± 81*	51	50	59	65
HPRT1	15,781 ± 2,310	140,705 ± 11,059	34	22	25	25
TBP	3,650 ± 178	31,625 ± 1,010	3	3	6	3
GUSB	1,794 ± 53	15,731 ± 1,134	9	12	13	12

* Obtained with cDNA diluted 200-fold because of its high abundance.

B. ddPCRとMiSeqの比較。ddPCRは低発現の転写産物(TBP遺伝子およびGUSB遺伝子)を数千コピー/ウェルという濃度で検出した。一方で、MiSeqはこれらの転写産物に関して1ケタ台のRPKM (reads per kilobase per million reads) しか検出できなかった。このことより、ddPCRは低発現のサンプルを高感度に検出できた。

ddPCR™ ライブラリ定量キットfor Illumina TruSeq

QX200™ ddPCR™ はNGSライブラリの調製および定量に最適なシステムです。バイオ・ラッドではIllumina社のプラットフォームに最適化キットしたキットをご用意しております。

- ドロップレット作成およびNGSライブラリ定量に必要とされる全ての試薬が梱包済み。
[ddPCR Supermix for Probes (no dUTP)およびddPCRライブラリ定量アッセイ試薬]
- アダプターダイマーや付加アダプターの量を評価として算出する事が出来ます。
- ライブラリ間のばらつきがより少ないシーケンシングを行うことが可能です。
- NGSにかかる消耗品、作業時間、労力を最適化できます。

Ordering information

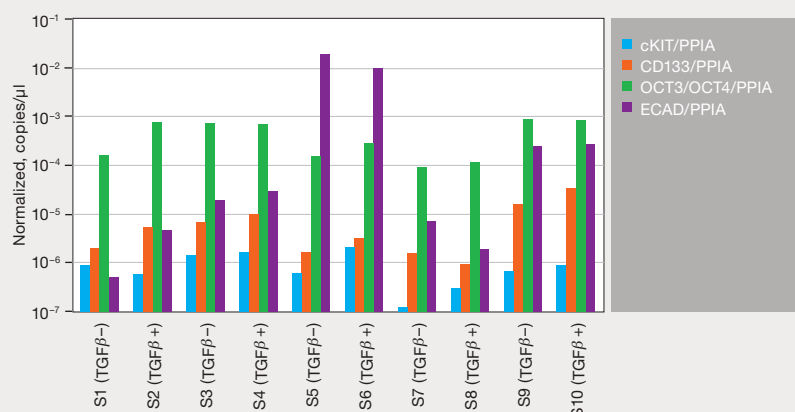
カタログ番号	品 名
1863040	ddPCRライブラリ定量キット for Illumina TruSeq (200反応分)

VARIOUS APPLICATIONS

GENE EXPRESSION STUDIES

高感度なQX200システムを使用することにより、RNAの機能解析に有用な、希少な転写産物の定量を行うことができます。また、高精度なQX200システムを使用することにより、異なるサンプル間のターゲット遺伝子発現量の小さな差を検出できます。さらに、QX200システムは検量線を用いずに遺伝子発現解析を行うことができます。

希少な転写産物の小さな量差を定量したアプリケーション例



高感度・高精度なQX200システムは希少な転写産物の小さな量差を定量できる

TGFβシグナル経路は、卵巣の幹細胞の制御において役割を果たしている。TGFβの添加は幹細胞数の増加をもたらすため、幹細胞マーカーの発現は増加し、E-cadherin (ECAD) のような最終分化マーカーの発現は減少する。左のデータは、TGFβ処理を行った/行っていない10個のサンプルに関するcKIT, CD133, OCT3/OCT4, およびECAD遺伝子の発現の定量結果である。当実験ではPPIA遺伝子でノーマライズしている。20 μlの反応系で、0.5~1ターゲット/μlの濃度まで再現性良く定量できた。S: sample

製品トレーニングコース “Easy-to-Use Solutions”

Easy-to-Use Solutionsはバイオ・ラッド製品のユーザ様向けトレーニングコースの名称です。開催回数は年100回を超え、毎年延べ300人以上の研究者の方にご参加いただいております。“製品の使い方を習得したい”、“実験手法を身につけたい”、“バイオ・ラッドの製品を体験したい”。トレーニング担当のアプリケーションスペシャリストはそんな研究者の皆様のご要望にお応えします。

Basicコース

¥5,000~

講義・ウェット実習を通して基本原理・実験の組み立て方、データ解析、トラブルシューティングを習得できます。

Advancedコース

¥10,000~

アプリケーションを絞り込んだ、より応用的で実践的なコースです。Basicコースと併せてご利用いただくことで理解を深めていただけます。

Technical Transferコース

¥100,000~

お客様のサンプルを用いて測定を実施するコースです。ご一緒に測定するコース、サンプルをお預かりし、弊社で実施した条件検討結果を移管するコースがあります。短時間でアッセイ系を構築されたい方には最適です。

申し込み方法

Webからのお申し込みになります。検索エンジンより“Bio-Rad ETUS”で検索していただくか、直接URLを入力していただき、“Bio-Rad Easy-to-Use Solutions”のサイト内をご覧ください。開催スケジュール、各コースの案内もご覧いただけます。

Bio-Rad ETUS



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



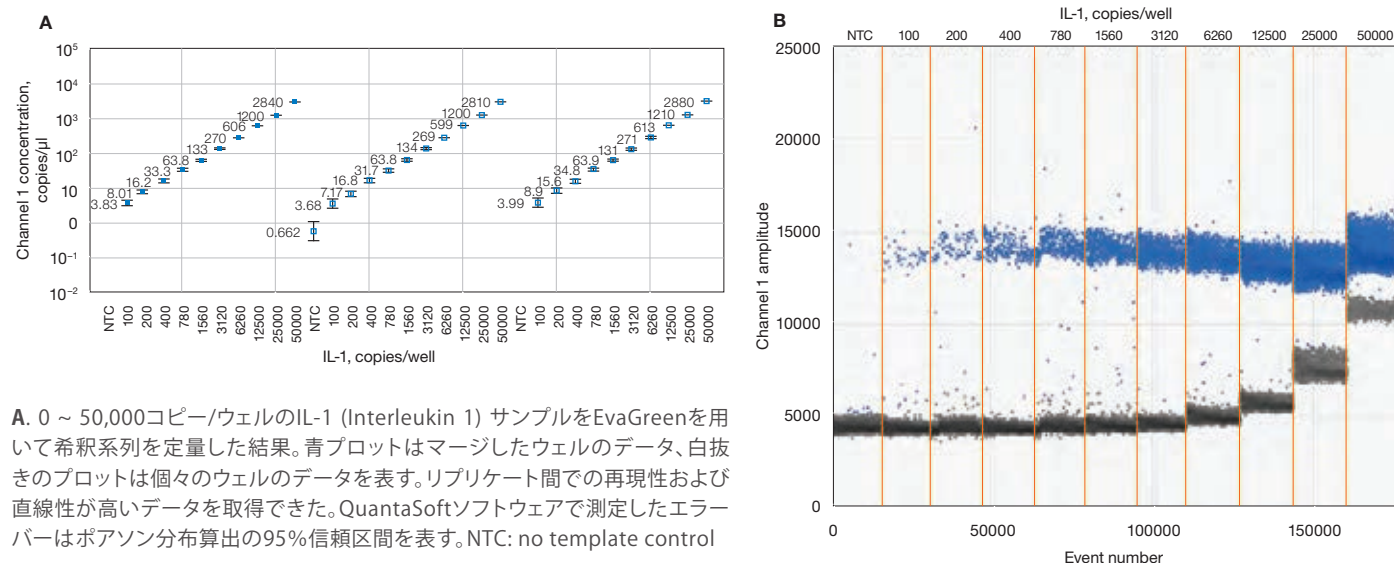
VARIOUS APPLICATIONS

ABSOLUTE QUANTIFICATION WITH EVAGREEN



Droplet Digital PCR(ddPCR)は、微小区画(ドロップレット)への分画および統計解析を行うことにより、検量線を用いること無しに定量を行うことができ、これにより低コピーのターゲットの高感度定量および(発現)量差の小さいサンプルの高精度定量を実現できます。ddPCRとEvaGreenのケミストリーを組み合わせることにより、ジェノタイピングや低発現のターゲット遺伝子の発現解析、ウイルス定量等のアッセイを最適化することが可能です。

ddPCRおよびEvaGreenを用いて高精度かつ再現性の高い定量したアプリケーション例



A. 0 ~ 50,000コピー/ウェルのIL-1 (Interleukin 1) サンプルをEvaGreenを用いて希釈系列を定量した結果。青プロットはマージしたウェルのデータ、白抜きプロットは個々のウェルのデータを表す。リプリケート間での再現性および直線性が高いデータを取得できた。QuantaSoftソフトウェアで測定したエラーバーはポアソン分布算出の95%信頼区間を表す。NTC: no template control

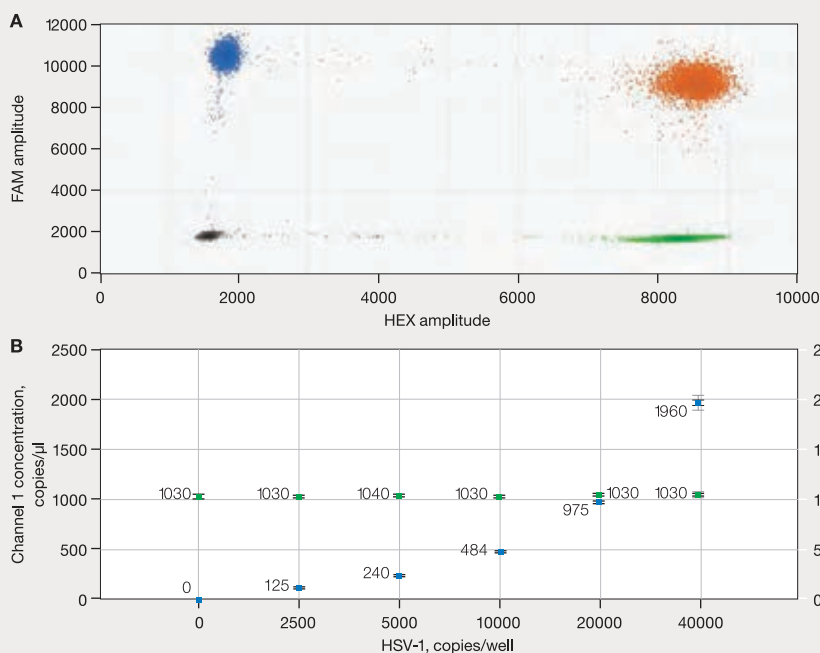
B. QX200 Droplet ReaderのEvaGreenチャンネルを用いて、IL-1をEvaGreenを用いて定量した際の1Dプロット。ポジティブなドロップレット(■)のデータポイントとネガティブなドロップレット(■)のデータポイントがよく分離している。

VARIOUS APPLICATIONS

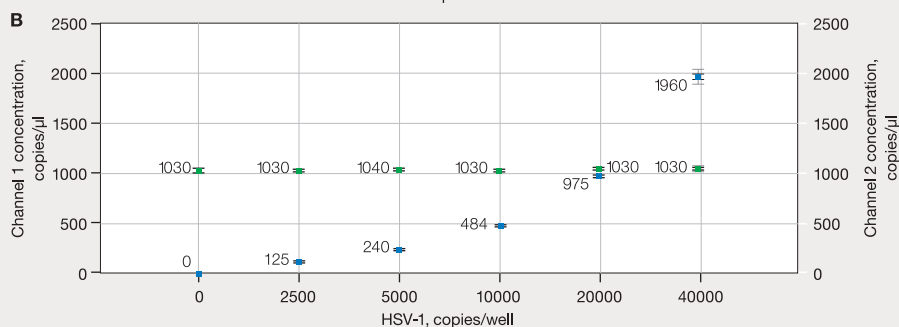
INSIGHT INTO VIRAL RESERVOIRS



正確なウイルス定量は、疾患の状態の特定や治療法の開発を行うために不可欠な技術です。ウイルスの量はしばしば変動します。また、ウイルスが非常に低い量まで減少してもなお重要な機能を有することもあります。ウイルスDNA/RNAを正確かつ再現性高く定量することは、様々な病原体の研究に役立ちます。QX200システムは、複雑な混合物からウイルス遺伝子を高感度に定量することが可能です。例えば、ウイルスRNAのコピー数を、逆転写反応でcDNAを作成することにより定量できます。また、高精度なウイルス定量を高いスループットで行うこともできます。

herpes simplex virus 1 (HSV-1) および β 2 microglobulin (B2M) ターゲットを高精度かつ再現性高く定量したアプリケーション例

A. 10,000コピー/ウェルのHSV-1サンプルと20,000コピー/ウェルのB2Mサンプルの定量結果。トリプレットをマージして測定した。黒色のクラスターはネガティブなドロプレット、緑色のクラスターはHSV-1のみポジティブなドロプレットを示す。また、青色のクラスターはB2Mのみポジティブなドロプレット、オレンジ色のクラスターはHSV-1/B2M共にポジティブなドロプレットを示す。



B. 20,000コピー/ウェルのB2M サンプルのバックグラウンド (66ngのhuman gDNAに相当) 中における、0~40,000コピー/ウェルのHSV-1サンプルの希釈系列の定量結果。トリプレットをマージして測定した。青色のマーカーはHSV-1の濃度(コピー/μl)、緑色のマーカーはB2Mの濃度(コピー/μl)を示す。QuantaSoftソフトウェアで測定したエラーバーはポアソンの95%信頼区間を表す。

論文検索サイト

Bio-RadのDroplet Digital PCRシステムは日本では2012年から販売が開始され、現在数多くのお客様にご使用いただいております。それに伴い論文の掲載実績も増加しており、2019年1月の時点で3,400報を超えました。そこで弊社ではDroplet Digital PCR (ddPCR)に関連する最新の研究結果や論文の検索を容易にする論文検索サイトを開設いたしました。キーワード検索やアプリケーション別での検索が可能となり、ご興味ある研究分野の論文を簡単に検索できます。

論文検索サイトは下記のURLよりご参照いただけます。

www.bio-rad.com/ddPCR/publications

The screenshot shows the Bio-Rad ddPCR publications search website. At the top, there are three green circles with numbers: 3440 Publications using Droplet Digital PCR, 978 Publications last year, and 0 Publications this year. Below this is a search bar with the text 'Search Publications'. There are two input fields for 'Title' and 'Authors'. Below these are two input fields for 'Journal' and 'Keywords'. There is a 'Filter by' section with two dropdown menus for 'Year' and 'Application Type'. At the bottom, there is a 'Sort by' dropdown menu set to 'Alphabetical / Asc'. There are also 'Search' and 'Reset' buttons.

1 現在検索可能な総論文数、去年の論文数、今年の論文数が表示されます。こちらは月に1回更新されます。

2 タイトル、著者名、雑誌名、キーワード等を入力ください。

3 年代別、アプリケーション別でも検索が可能です。

- 論文のアップロードは1ヵ月毎に行われ、2~3ヵ月前までに発表されている論文を検索することが可能です。
- 検索結果をエクセルやPDF等にアウトプットすることはできません。
- 弊社では細心の注意を払いデータベースを構築しておりますが、検索情報に間違いや漏れがございましたら、お手数ではございますがlife_ps_jp@bio-rad.comまでメールにてご連絡ください。

WHAT'S IN A DROPLET?

AUTOMATED PRECISE DROPLET GENERATOR



正確性・安定性の高いワークフローをよりシンプルに

Automated Droplet Generator(AutoDG™)はQX100/200 Droplet GeneratorのddPCRのワークフローを簡便化し、高い拡張性と安定性を実現します。



Automated Droplet Generatorの特長

- Automated Droplet GeneratorはデジタルPCRのワークフローを簡便化
- ハンドリング時間を短時間化・省力化
- ユーザー間のハンドリング誤差を軽減
- 45分以内に96ウェルのサンプル調製を終了
- 8ウェルごとの細かなサンプル設定が可能
- タッチスクリーンガイドが最速のサンプルセットを実現
- HEPAフィルターによるコンタミネーションリスクの軽減
- 大画面カラータッチスクリーンがシンプルなセットアップとプレートトレースをサポート
- ランニングコストを軽減

簡単なセットアップとRun

Automated Droplet Generatorの大きくカラフルな7インチタッチスクリーンインターフェイスが、簡単な4stepでのドロップレット作成を可能にします。外部PCは必要としないため、非常にシンプルなワークフローを実現しています。

STEP 1

使用する8ウェルストリップを
96ウェルから決定



STEP 2

使用するプローブ用か
EvaGreen®用どちらかのOilを選択



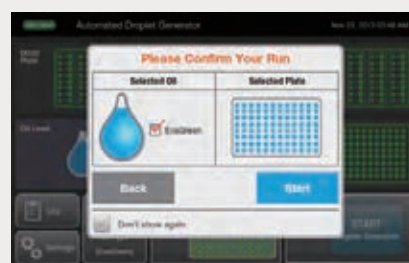
STEP 3

サンプルと専用消耗品をセット

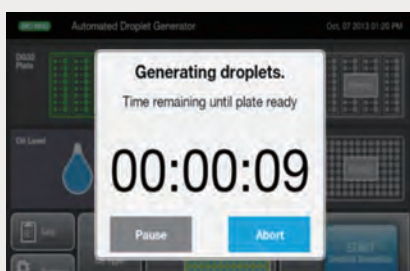


STEP 4

専用消耗品がシステムに
認識されたことを確認したらRunへ



カウントダウンタイマーがディスプレイに表示され、残り時間が確認できます。プレート準備が整うと終了時間が表示され、ラボワーク時間を最大限に有効活用できます。全てのRun情報はエクスポート可能なログファイルに保存され、実験後の確認が可能です。



ハンドリング時間、ランニングコストの軽減

Automated Droplet Generatorを用いた場合、QX100/200 Droplet Generatorと比較して、ハンドリング時間およびランニングコストが軽減されます。

	Automated Droplet Generator	QX100/200 Droplet Generator
ハンドリング時間/96サンプル	約5分	約30分
ランニングコスト/1サンプル	653円	758円

※上記のランニングコストは加水分解用プローブ用Super mixを用いた場合を元に算出されています。
また、上記の金額には加水分解プローブおよびプライマーのコストは含まれていません。

Ordering information

カタログ番号	品 名
1864101JA	Automated Droplet Generator システム

WHAT'S IN A DROPLET?

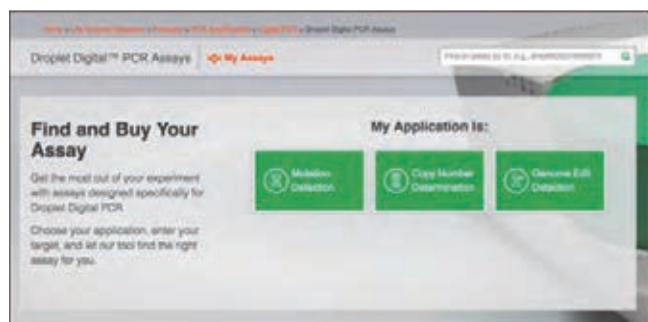
VALIDATED ddPCR ASSAYS



PrimePCR™ Droplet Digital™ PCR (ddPCR) アッセイ

PrimePCR™ ddPCR™ アッセイは、ddPCRシステムのパフォーマンスを最大限に発揮するための完成したアッセイソリューションを提供します。専用のウェブサイトより遺伝子変異検出、コピー数多型解析、ゲノム編集のスクリーニングに特化した多くのアッセイを検索できます。またリアルタイムPCRとの共通のPrimePCRサイトでは遺伝子発現解析用アッセイ（プローブ用、EvaGreen用）も検索が可能です。

PrimePCR™ ddPCR™ アッセイ専用ウェブサイト



PrimePCRのDroplet Digital PCR (ddPCR™) アッセイ専用ウェブサイトでは、デジタルPCR用の変異解析、CNV（コピー数多型）解析、ゲノム編集検出アッセイ用プライマー／プローブセットおよびExpert Design Assayシリーズを、専用オーダーフォームによりご提供しております。カスタムアッセイにも対応したこの専用サイトを是非ご活用くださいませ。

<https://www.bio-rad.com/digital-assays/>

（アクセスには弊社Webサイトでのユーザー登録が必要となります）

ddPCR™ アプリケーション

PrimePCRのDroplet Digital PCR(ddPCR™)アッセイ専用ウェブサイトでは、アプリケーション別にアッセイをご提供しております。



変異検出

変異検出を高感度に検出可能



コピー数多型解析

検量線なしにコピー数のわずかな変化を検出



発現解析

高精度・高感度・高再現性の発現解析が可能
(qPCR共通サイトにて提供)



ゲノム編集検出

NHEJおよびHDR編集において、高精度かつ高感度検出が可能



エキスパートデザイン

専門家がデザインした、デジタルPCRの先進的なアプリケーション



カスタムサービス

カスタムデザインのアッセイを注文することも可能です
(qPCR共通サイトにて提供)

ddPCR各種アッセイフォーマットの違い



アプリケーション	ケミストリー	アプリケーション	バリデーション
Human	Probe アッセイ	遺伝子変異検出	Wet-Lab バリデーション In-Silico*
		CNV解析 (コピー数多型)	Wet-Lab バリデーション In-Silico*
		ゲノム編集検出	In-Silico*
Human, Rat, Mouse	EvaGreen® アッセイ, Probe アッセイ	遺伝子発現解析	In-Silico

※カスタムアッセイにて遺伝子配列情報や遺伝子名よりアッセイを設計することも可能です。

ご注文方法

PrimePCR製品のご注文には、「マイ バイオ・ラッド」にユーザー登録の上(初回のみ)、Webサイトから専用注文書である**オーダーフォームの発行**が必要です。ユーザー登録後、製品検索を行いオーダーフォームの発行を専用サイトより行ってください。オーダーフォームは登録したアドレスに発行されますので、これを印刷の上販売店様にご注文ください。詳細はPrimePCRプライマーアッセイ&アレイカタログをご参照ください。

詳細はPrimePCRサイトにてご確認ください。

PrimePCR



関連キット

PrimePCR for ddPCRマルチスクリーニングキットはドロップレットデジタルPCRの高い精度と感度を用いて、1ウェルにて複数の遺伝子変異を迅速スクリーニングできるよう設計されています。RASファミリー、BRAFおよびEGFRのExon19 Deletionを幅広くスクリーニングできるキットがラインナップされています。

Ordering information

遺伝子変異 (rare mutation) 検出用キット

マルチプレックスキット

カタログ番号	品 名	対象遺伝子変異
1863506	PrimePCR for ddPCR KRAS マルチスクリーニングキット	G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D
12001006	PrimePCR for ddPCR NRAS Q61 マルチスクリーニングキット	Q61H (183A>C), Q61H (183A>T), Q61K, Q61L, Q61R
12001037	PrimePCR for ddPCR BRAF V600 マルチスクリーニングキット	V600E, V600K, V600R
12001094	PrimePCR for ddPCR NRAS G12 マルチスクリーニングキット	G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V
12001626	PrimePCR for ddPCR KRAS Q61 マルチスクリーニングキット	Q61H (183A>C), Q61H (183A>T), Q61K, Q61L, Q61R
12001627	PrimePCR for ddPCR NRAS G12/G13 マルチスクリーニングキット	G12A, G12C, G12D, G12S, G12V, G13D, G13R, G13V 2235_2252>AAT, 2235_2249del15, 2236_2250del15, 2238_2252>GCA, 2238_2255del18, 2239_2253>CAA, 2239_2251>C, 2239_2258>CA, 2239_2252>CA, 2239_2256del18, 2239_2248TTAAGAGAAG>C, 2239_2253del15, 2239_2247delTTAAGAGAA, 2240_2254del15, and 2240_2257del18
12002392	Prime PCR for ddPCR EGFR Ex19 Del マルチスクリーニングキット	

※当試薬は研究用試薬であり、QX100/QX200 Droplet Digital PCRシステムにおける専用試薬です。本製品にはSupermixが含まれます。対象生物種はヒトです。

CNV(Copy Number Variation)解析用キット

カタログ番号	品 名	対象遺伝子変異
1863500	PrimePCR for ddPCR SMN1 Copy Number Determination Kit	SMN1
1863503	PrimePCR for ddPCR SMN2 Copy Number Determination Kit	SMN2

※アッセイには別途HeaIII (制限酵素)が必要となります。容量は200反応分です。

当試薬は研究用試薬であり、QX100/QX200 Droplet Digital PCRシステムにおける専用試薬です。本製品にはSupermixが含まれます。対象生物種はヒトです。

仕様

QX200 Droplet Generator システム

サンプル容量	20 μ l
サンプルあたりドロップレット数	20,000
1ランあたりのサンプル処理数	8サンプル/ラン
スループット	2分/8サンプル
サイズ (W×D×H)	28×36×13 cm

QX200 Droplet Readerシステム

読取り区画数	10,000以上/サンプル
励起光源	2LED
検出器	MPPC (Multipixel Photon Counters)
検出チャンネル	FAM (EvaGreen), HEX (VIC)
1ランあたりのサンプル処理数	96サンプル/ラン
スループット	2.5時間/96サンプル
サイズ (W×D×H)	66×52×29cm

Automated Droplet Generator システム

サンプル容量	20 μ l
サンプルあたりドロップレット数	20,000
1ランあたりのサンプル処理数	96サンプル/ラン
スループット	45分以内/96サンプル
サイズ (W×D×H)	66×66×66cm (上部ドア開放時: 66×66×89cm)

ddPCR専用解析用ノートPC

オペレーションシステム (OS)	Windows 10 Professional 64bit 英語版以上
ハードディスク容量	250 GB 以上
メモリー容量	8 GB 以上
画面サイズ	15.6 inch 以上
解析制御ソフト	QuantaSoft™ ソフトウェア
主な解析機能	ポアソン分布による演算処理、コピー数/uL、CNV、Rare Sequenceのデータ表示及び QX200 Droplet Readerシステムの制御

Ordering Information

カタログ番号 品名

QX200 Droplet Digital PCRシステム

1864100JA	QX200 AutoDG Droplet Digital PCRシステム 構成内容: Automated Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC
1864100J1	QX200 AutoDG Droplet Digital PCRシステム C1000 Touch付 構成内容: Automated Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC, C1000 Touchサーマルサイクラー, 96Deepwellリアクションモジュール
1864100J2	QX200 AutoDG Droplet Digital PCRシステム PX1付 構成内容: Automated Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC, PX1 PCR Plate Sealer, ddPCR用ホイルヒートシール
1864100J3	QX200 AutoDG Droplet Digital PCRシステム C1000 Touch、PX1付 構成内容: Automated Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC, C1000 Touchサーマルサイクラー, 96Deepwellリアクションモジュール, PX1 PCR Plate Sealer, ddPCR用ホイルヒートシール
1864101JA	Automated Droplet Generatorシステム 構成内容: Automated Droplet Generator本体
1864001JA	QX200 Droplet Digital PCRシステム 構成内容: QX200 Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC
1864001J1	QX200 Droplet Digital PCRシステム C1000 Touch付 構成内容: QX200 Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC, C1000 Touchサーマルサイクラー, 96Deepwellリアクションモジュール
1864001J2	QX200 Droplet Digital PCRシステム PX1付 構成内容: QX200 Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC, PX1 PCR Plate Sealer, ddPCR用ホイルヒートシール
1864001J3	QX200 Droplet Digital PCRシステム C1000 Touch、PX1付 構成内容: QX200 Droplet Generatorシステム, QX200 Droplet Readerシステム, ddPCR専用解析用ノートPC, C1000 Touchサーマルサイクラー, 96Deepwellリアクションモジュール, PX1 PCR Plate Sealer, ddPCR用ホイルヒートシール
1864002JA	QX200 Droplet Generatorシステム 構成内容: QX200 Droplet Generator本体, カートリッジおよびガスケット, カートリッジホルダー, アクセサリー
1864003JA	QX200 Droplet Readerシステム 構成内容: QX200 Droplet Reader本体, プレートホルダー, アクセサリー
1864003JB	QX200 Droplet Digital PCR Readerシステム PC付き 構成内容: QX200 Droplet Reader本体, プレートホルダー, アクセサリー, ddPCR専用解析用ノートPC
1863007JA	ddPCR専用解析用ノートPC 構成内容: ddPCR専用ノートPC本体, QuantaSoft™ ソフトウェア

保守契約サービスプラン

SVCA1864001-CO	QX200 Droplet Digital PCR Complete Support Plan
SVCEC1864001-01	QX200 Droplet Digital PCR Extended Cover Plan
SVCQ1864001-QQ	QX200 Droplet Digital PCR IQQO サービス

カタログ番号 品名

AutoDG専用試薬/消耗品

1864108	DG32カートリッジ(960ウェル分)
1864109	DG32カートリッジ(1920ウェル分)
1864110	Automated Droplet Generatorオイル for Probes(1920ウェル分)
1864112	Automated Droplet Generatorオイル for EvaGreen(1920ウェル分)
1864120	Automated Droplet Generator専用ピペットチップ(960ウェル分)
1864121	Automated Droplet Generator専用ピペットチップ(1920ウェル分)
1864125	Automated Droplet Generator専用ピペットチップ回収トレイ

ddPCR試薬/消耗品

12005909	ddPCR Multiplex Supermix(200ウェル)
12005910	ddPCR Multiplex Supermix(500ウェル)
12005911	ddPCR Multiplex Supermix(2,500ウェル)
1863026	ddPCR Supermix for Probes(200ウェル分)
1863010	ddPCR Supermix for Probes(500ウェル分)
1863027	ddPCR Supermix for Probes(2,500ウェル分)
1863028	ddPCR Supermix for Probes(5,000ウェル分)
1863023	ddPCR Supermix for Probes(no dUTP)(200ウェル)
1863024	ddPCR Supermix for Probes(no dUTP)(500ウェル分)
1863025	ddPCR Supermix for Probes(no dUTP)(2,500ウェル分)
1864021	One-Step RT-ddPCR Advanced Kit for Probes (200ウェル分)
1864022	One-Step RT-ddPCR Advanced Kit for Probes (500ウェル分)
1864033	ddPCR EvaGreen Supermix(200ウェル分)
1864034	ddPCR EvaGreen Supermix(500ウェル分)
1864035	ddPCR EvaGreen Supermix(2,500ウェル分)
1864036	ddPCR EvaGreen Supermix(5,000ウェル分)
1863052	ddPCR Buffer Control Kit for Probes
1864052	ddPCR Buffer Control Kit for EvaGreen
1863004	Droplet Readerオイル(1,000ウェル分)
1863005	Droplet Generatorオイル for Probes(1,000ウェル分)
1864005	Droplet Generatorオイル for EvaGreen(200ウェル分)
1864006	Droplet Generatorオイル for EvaGreen(1,000ウェル分)
1864007	DG8カートリッジ&ガスケットセット(960ウェル分)
1864008	DG8カートリッジ(192ウェル分)
1863009	DG8ガスケット(192ウェル分)
12001925	ddPCR 96-well PCR plate
1863051	DG8カートリッジホルダー

サーマルサイクラー/プレートシーラー

1851197JA	C1000 Touchサーマルサイクラー+96 Deep wellリアクションモジュール
1814000J1	PX1PCR Plate Sealer
1814040	ddPCR用ホイルヒートシール (100枚)

※各製品の価格はお問合せください。

EvaGreen is a trademark of Biotium, Inc. Bio-Rad Laboratories, Inc. is licensed by Biotium, Inc. to sell reagents containing EvaGreen dye for use in real-time PCR, for research purposes only. FAM and VIC are trademarks of Applied Biosystems Corporation. Illumina, MiSeq, and TruSeq are trademarks of Illumina, Inc. TaqMan is a trademark of Roche Molecular Systems, Inc.

This product and/or its use is covered by claims of U.S. patents, and/or pending U.S. and non-U.S. patent applications owned by or under license to Bio-Rad Laboratories, Inc. Purchase of the product includes a limited, non-transferable right under such intellectual property for use of the product for internal research purposes only. No rights are granted for diagnostic uses. No rights are granted for use of the product for commercial applications of any kind, including but not limited to manufacturing, quality control, or commercial services, such as contract services or fee for services. Information concerning a license for such uses can be obtained from Bio-Rad Laboratories. It is the responsibility of the purchaser/end user to acquire any additional intellectual property rights that may be required.

Bio-Rad's real-time thermal cyclers are covered by one or more of the following U.S. patents or their foreign counterparts owned by Eppendorf AG: U.S. Patent Numbers 6,767,512 and 7,074,367.

BIO-RAD

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

取扱店

ライフサイエンス

www.bio-rad.com

本社	〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24	TEL: 03-6361-7000
大阪営業所	〒532-0025 大阪市淀川区新北野 1-14-11	TEL: 06-6308-6568
福岡営業所	〒812-0013 福岡市博多区博多駅東 2-5-28	TEL: 092-475-4856
※学術的なお問合せは		TEL: 03-6404-0331

※価格 (税抜き)、仕様は2019年4月現在のもので、予告無く変更することがあります。

※本カタログに記載されている会社名、商品名は各社の商標または登録商標です。