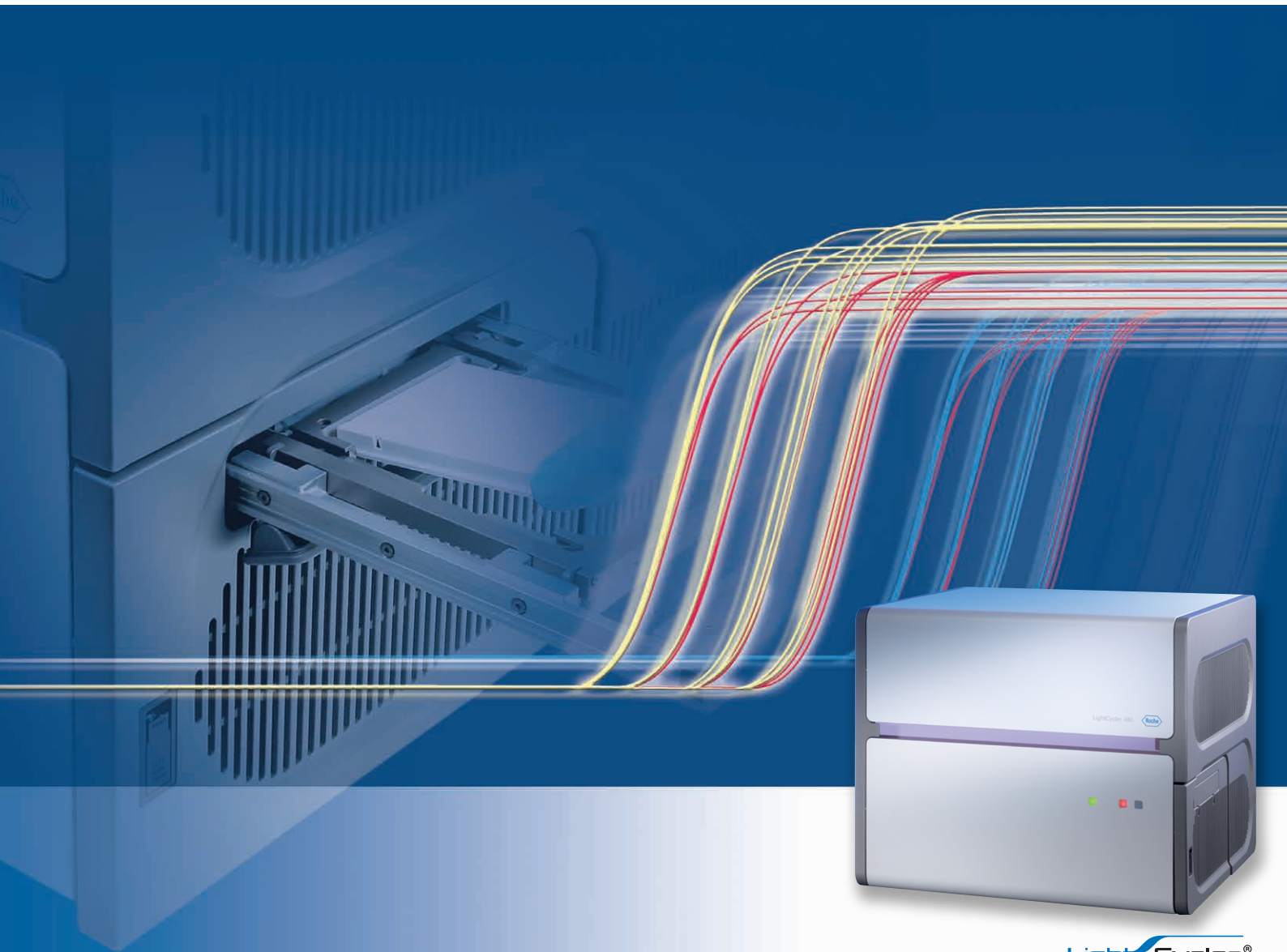




研究用

LightCycler[®] 480 System II

Unleash the Potential of Real-Time PCR



LightCycler[®]

ロシュ・ダイアグノスティックス社が提供する、革新的でさらに進化した LightCycler® 480 System II は、ミディアムおよびハイスループットリアルタイム PCR における様々なアプリケーションでお客様の成功をより確実なものとしします。

プレートベースの LightCycler® 480 System II は、遺伝子発現および遺伝子変異解析に対して、適応性および汎用性が高いリアルタイム PCR システムです。

LightCycler® 480 System II は、最新の機器設計、優れた技術およびソフトウェアというだけではなく、その先進的な試薬および消耗品とのコンビネーションによって、高速かつ、精密で、最も難しいリアルタイム PCR アプリケーションに対するニーズを十分に満たすことができます。

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム	3
イントロダクション	3
システム構成	5
機器の詳細	5
ソフトウェア	7
試薬および消耗品	8
システムアプリケーション	10
パフォーマンス	10
LightCycler® 480 遺伝子定量 ソリューション	11
LightCycler® 480 ジェノタイピング ソリューション	12
LightCycler® 480 ジーンスクヤニング ソリューション	13
システムサービス	14
システム仕様	15
オーダーインフォメーション	16

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

高性能リアルタイム PCR のための新しいスタンダード

LightCycler® 480 System のスピード、正確性および汎用性によって、リアルタイム PCR アプリケーションは感度、特異度およびスループットの面で新しい局面を迎えました。この度、さらに進化した LightCycler® 480 System II でリアルタイム PCR アプリケーションに新しいスタンダードをもたらします。

LightCycler® 480 System II が選ばれる理由…

- 独自のシルバーサーマルブロック技術を用いた、ウェル間差のないデータの優れた均一性。
- 容易に交換可能な 96 および 384 ウェルサーマルブロックユニット。
- アッセイ時間の大幅な短縮 (384-ウェルフォーマット、40 サイクル：<40 分)。
- 正確なデータ収集のための進化した高性能光学システム。
- 多くの蛍光色素および検出フォーマットに対応する高い柔軟性。
- 時間のかかるメンテナンスやキャリブレーションがいらぬメンテナンスフリーシステム。
- 高度なデータ解析機能のための卓越したソフトウェア・アルゴリズム。
- さらに進化した、直感的に使いやすいソフトウェアインターフェイス。
- エンドポイント法や融解曲線法など最も多機能な変異解析ツール。
- 機器に最適化された試薬および消耗品による優れた PCR データ。
- 蛍光データ取得により適したホワイトプレート、溶液や気泡の有無の確認に適したクリアプレートの選択が可能。
- 専用アダプタープレートを用いることで、8 連チューブストリップも使用可能。
- HybProbe や高解像度融解曲線分析に基づいた遺伝子変異解析と Hydrolysis Probe に基づいたエンドポイントジェノタイピング。
- ウェットバリデーション済みの発現定量アッセイ RealTime ready カスタムパネルとシングルアッセイが利用可能。
- 新しいサンプルエディターでの簡単に迅速なアッセイセットアップ。
- ベーシックからアドバンスまでの幅広い遺伝子変異解析と遺伝子発現解析が可能。
- 自動化されたハイスループットワークフローへの組み込みが可能。
- 最先端の LIMS へ接続可能。
- 21 CFR part 11 に対応したデータ保護システム。
- 優れた顧客サポートおよび機器サポート。



LightCycler[®] 480 リアルタイム PCR システム

実績のある高性能 LightCycler[®] テクノロジー

1998年に発表されて以来、ロシュ・ダイアグノスティックス社のLightCycler[®] リアルタイムPCRシステムは、スピード、正確性、使い勝手のよさ、汎用性にこだわってきました。

2005年に開発されたLightCycler[®] 480 Systemではこのコンセプトをプレートベースではじめて実現しました。

2008年、そのシステムをさらに進化させたLightCycler[®] 480 System IIが誕生しました。

2005年、革新的なテクノロジーを搭載したLightCycler[®] 480 Systemによって、迅速で正確なリアルタイムPCRという、新しいスタンダードの道を開きました。この先進的なテクノロジーをさらに進化させたLightCycler[®] 480 System IIの、精巧にデザインされたサーマルブロック、光学システムおよびソフトウェアにより、最高の感度、正確性、再現性を実現します。

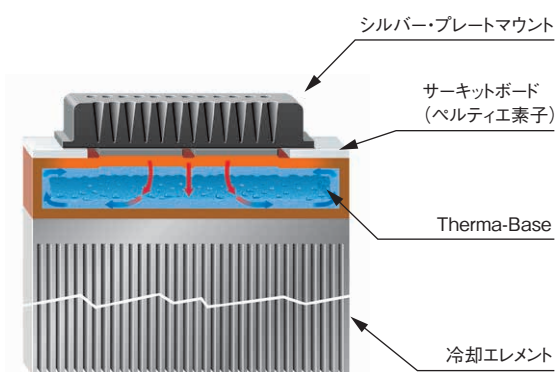
LightCycler[®] 480 System IIの多くの構成要素はモジュール構造を継承し、引き続き高い柔軟性をご提供します。お客様自身でサーマルブロック（96ウェルあるいは384ウェルフォーマット）が容易に交換でき、様々な光学フィルタの組み合わせができ、必要なソフトウェアを自由に選択することができます。



▲ 図1：LightCycler[®] 480 サーマルブロックユニットの高い柔軟性。LightCycler[®] 480 サーマルブロックユニット（96-ウェル/384-ウェルフォーマット）は、お客様自身によって、わずか数分で簡単に交換できます。交換されたサーマルブロックは自動的に識別され、再キャリブレーションの必要性もないため、無駄な時間を浪費することなく実験を続行することができます。

強力なオプションソフトウェアにより、コンピュータ制御環境や自動化ワークフローへのシームレスな統合を可能にします。標準で21 CFR Part 11に対応したトレーサブルデータベースと自由な操作が実現できるリサーチデータベースから目的に合わせて選択することが可能になりました。

LightCycler[®] 480 System IIは、多機能な機器やソフトウェアだけでなく、高性能な試薬やカスタマイズqPCRアッセイ（Universal ProbeLibrary システムに基づいたRealTime ready アッセイ）および専用にデザインされた消耗品などから構成されています。この革新的なシステムは、遺伝子発現解析および遺伝子変異解析に求められる厳しいニーズをすべて満たします。さらに、あらゆる用途に対応できる高い汎用性は、ゲノム研究における今後の新しい技術にも適応可能です。



▲ 図2：LightCycler[®] 480 サーマルブロックサイクラーの概略図。サーマルブロックユニットに採用された、Therma-Baseは、液体で満たされた、ウィック構造で裏打ちされた薄い空洞構造です。Therma-Baseは、一連の凝縮と蒸発サイクルを利用して、効率的に熱を分散させることができます。これによって、急速な温度変化に対応することができます。

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

スピード、正確性、汎用性の理想的なコンビネーション

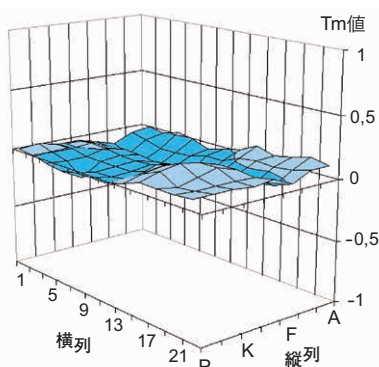
画期的な PCR サーマルブロックのデザイン

LightCycler® 480 System は、サーマルブロックと冷却エレメントの間に高効率の熱均一化技術 (Therma-Base) を導入することで温度制御に革命をもたらしました。LightCycler® 480 System II では、プレートマウント部に熱抵抗の少ない金属である銀を材質として用いることでさらに高い温度均一性を実現しました。

この画期的な温度制御により、非常に迅速な PCR プロトコルでも、アッセイフォーマットやアプリケーションに関係なく、非常に均一性の高い優れたデータが得られます。

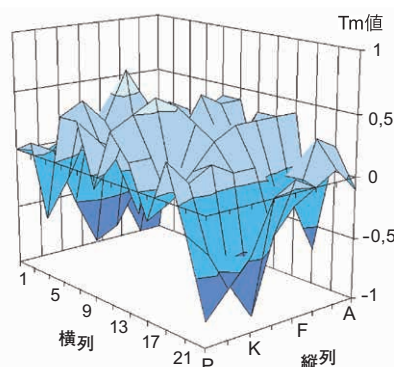
LightCycler® 480 サーマルブロックのキーポイント

- アッセイフォーマットやアプリケーションに関係なく、Fast PCR プロトコルを実行可能 (384 ウェルプレートの場合 40 サイクルを 40 分以内で実施)。
- 特許技術である Therma-Base とシルバーブロックの組み合わせで、迅速で正確な温度制御が可能。
- 非常に優れたウェル間の温度均質性 (最大ウェル間差 0.4°C 以下、低濃度 (100 コピー) の定量アッセイでも Cq 値のウェル間差が 0.2 サイクル以内)
- Ramping 時にも厳密な温度制御により、再現性の高い PCR が可能 (例: 具体的に何°C/s の設定が可能)。



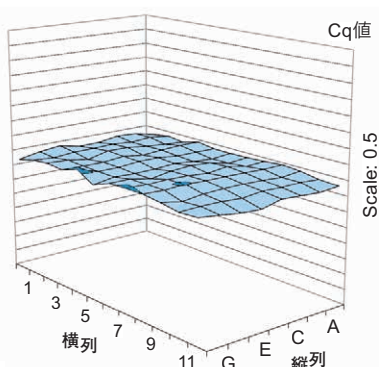
a

▲ 図3：384-ウェルプレートにおける温度均一性：a) LightCycler® 480 システム、b) 他のリアルタイム PCR システム。全体の温度均一性を実証するために、蛍光標識オリゴヌクレオチドの融解温度 (Tm) を用いました。理論上の Tm 値をゼロとして、すべての 384



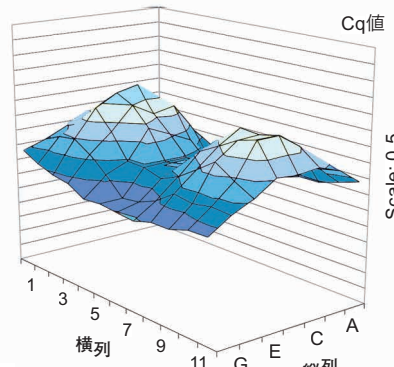
b

ウェルの測定された Tm 値と理論値との差分をプロットしました。データは (a) LightCycler® 480 サーマルブロック (最大ウェル間差 0.4°C 以下) が、(b) 一般的なサーマルブロック (最大ウェル間差 1.4°C) と比較して温度均一性が高いことを示しています。



a

▲ 図4：96-ウェルプレートにおけるクロッシングポイント (Cq) の均一性：a) LightCycler® 480 システム、b) 他のリアルタイム PCR システム。低濃度 (100 コピー) のあるターゲット配列 (442bp) を Fast PCR プロトコル (20 µL 反応容量、加水分解プローブフォーマット) を用いて増幅しました。Cq 値は、縦軸 1 区間を 0.5 として、全 96 ウェルに対してプロットされま



b

した。データは、(a) LightCycler® 480 システム (最大ウェル間差：0.2 サイクル以下) が、(b) 一般的なリアルタイム PCR システム (最大ウェル間差：約 3.0 サイクル) と比較して、低濃度でも、測定結果のウェル間差を抑え、正確性が高いアッセイが可能であることを示しています。

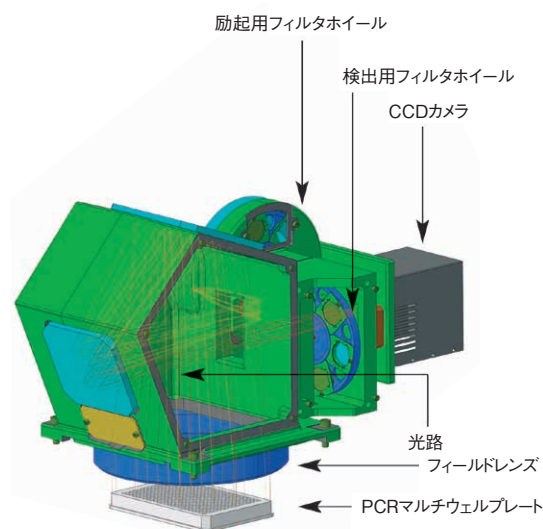
LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

スピード、正確性、汎用性の理想的なコンビネーション

さらに進化した高性能光学システム

LightCycler® 480 System II の優れた光学的システムは、高出力で幅広いスペクトルの LED を使用しています。幅広いレンジをカバーする光学フィルタを自由に組み合わせることで、現在のリアルタイム PCR アプリケーションに使用されるすべての蛍光色素および検出フォーマットが利用できます（例：HybProbe を用いた融解曲線による変異解析）。LightCycler® 480 System II では、ユニークな光学コンポーネントと非常に長い焦点距離により、サンプルのポジションに関係なくプレート全体にわたり、均質なシグナルの励起と、均一なデータ取得が可能です。この優れたシグナル取得により、高解像度での融解曲線解析を行うことも可能です。また、ウェル間の蛍光シグナルを補正するために必要なパッシブリファレンス色素（例：ROX）を使用する必要もありません。さらに多色同時検出に最適化された、LightCycler® 480 System II では、FAM/VIC (LC yellow 555) の2色検出では補正実験すら必要なくなりました。

▼ 表1：励起および検出フィルタと蛍光色素および検出フォーマットの概要。LightCycler® 480 System II は、幅広い波長レンジ (390-710nm) で励起する LED を採用しています。5つの励起と6つの検出フィルタは、あらゆる組み合わせで使用できます。



▲ 図5：LightCycler® 480 検出ユニットの概略図。

LightCycler® 480 光学システムのキーポイント：

- 現存するすべての蛍光物質と検出フォーマットを選択できる高いフレキシビリティ。
- ROX などの蛍光シグナルによる補正を行わない、プレート全体における正確なシグナル取得。
- 様々な組み合わせのマルチプレックスに対応。FAM/VIC (LC yellow 555) はキャリブレーション済み。利用にあわせて、補正ファイルを作成できます。補正専用の試薬を必要とせず、オリジナルの補正ファイルの作成が可能。

LED (390-710)	[Color Spectrum Bar]						
励起フィルタ (nm)	440	465	498	533			618
検出フィルタ (nm)	488	510	580	610	640	660	
蛍光色素	LightCycler® Cyan 500	SYBR ResoLight	Fluorescein FAM	HEX (VIC)	LightCycler® Red 610	LightCycler® Red 640	Cy5
融解曲線		•					
HRM		•					
SimpleProbeプローブ			•				
HybProbeプローブ				(•)	•	•	•
加水分解プローブ 1-3色同時検出			•	•			•
加水分解プローブ 4色同時検出	•		•		•		•

(•) FRETドナー

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

高品質なデータを生み出す優れたツール

さらに進化したソフトウェア性能

LightCycler® 480 System II に搭載された革新的なソフトウェアは、汎用性を犠牲にすることなく、迅速で正確なデータを生成するために、最新技術を駆使した独自のアルゴリズムを搭載しています。このソフトウェアは使い易さを主眼に設計がされていますので、データナビゲーションや各種機器設定、データの取得および解析において、直感的な操作が可能です。また、便利で拡張性の高いインポートおよびエクスポートの機能によって、コンピュータ制御環境へのシームレスな統合も可能です。さらに、このソフトウェアには、最新のデータ管理およびデータ保護機能も備わっています。

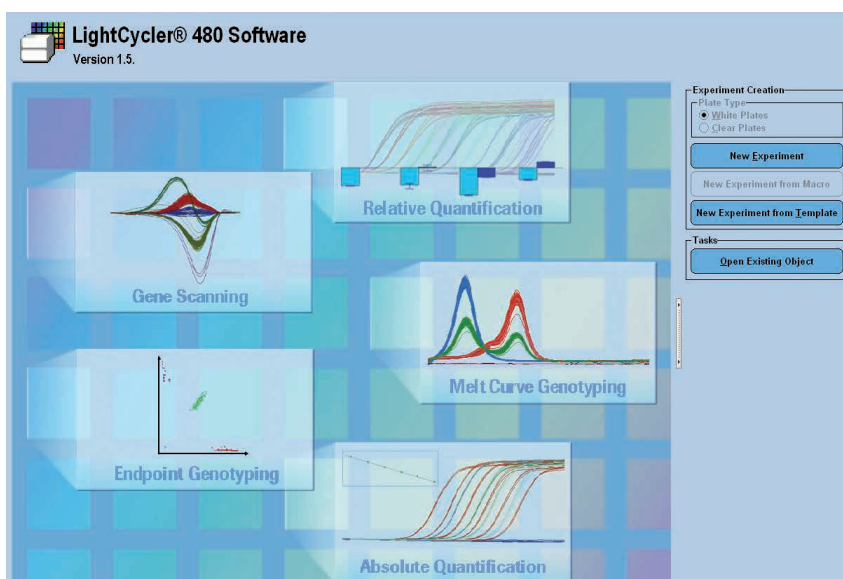
LightCycler® ソフトウェアは、遺伝子発現解析や遺伝子変異解析などの一般的なリアルタイム PCR アプリケーションのすべてをカバーするソリューションを提供します。

ソフトウェアパッケージには、基本ソフトウェアと特殊な用途のためのオプションモジュールがあります。マニユ

アル操作にて、機器の設定や解析を行うツールは基本ソフトウェアに含まれます。別途、オプションモジュールを用いることで、自動化システムへ統合することも可能です。このように、LightCycler® 480 System II ソフトウェアは、カスタマイズされた様々なアプローチから、統合された自動化ワークフローまで、すべての研究者のニーズを満たします。

LightCycler® 480 ソフトウェアのキーポイント

- 先進的で、直感的に使い易いソフトウェア。
- テンプレートを組み合わせるだけの簡単操作からマクロ機能で自動解析も可能な自由度の高いユーザーインターフェイス。
- 実績のある LightCycler® アルゴリズムを用いた正確なリアルタイム PCR データ作成。
- プレートビュー及びテーブルビューでサンプル情報の編集およびテキストファイルからのインポートが可能。
- 柔軟な研究モードとセキュアモードが選択可能。



◀ 図6：
LightCycler® 480 ソフトウェア
インターフェイス (オープニング
画面) のスクリーンショット。
・ 定量解析や変異解析への幅広いアプリケーションへの簡単なアクセス
・ 様々なテンプレートやマクロプログラムを用いて手軽で迅速なラン設定
・ ホワイトプレートやクリアプレートのどちらも簡単に選択できる高いフレキシビリティ

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

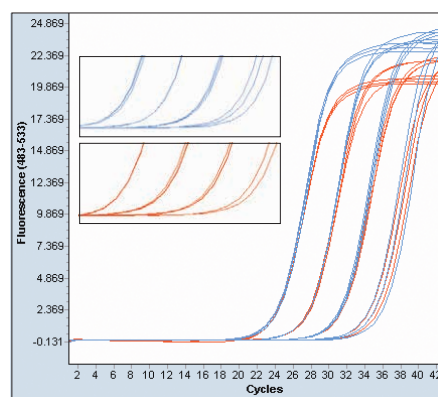
Fast リアルタイム PCR の最大限の利便性

すべての PCR アプリケーションのニーズに応える 高性能な試薬

LightCycler® 480 専用試薬はロシュ・ダイアグノスティックス社の改良されたホット・スタート PCR 酵素を使用しており、リアルタイム PCR に対し、優れた感度と特異度をもたらします。簡便で、すぐに使用できる LightCycler® 480 マスターミックスは、主なすべてのリアルタイム PCR アプリケーション（例：遺伝子定量解析、遺伝子変異解析など）において、一般的な標準 PCR プロトコルと Fast プロトコルの両方で実施することができます。

さらに、これらのマスターミックスは自動化されたハイス

ループットワークフローに用いるために、室温下での試薬安定性が強化されています。また、この優れた試薬安定性によって、毎日の試薬調製時の温度を気にすることなくご利用いただけます。



▲ 図 7: LightCycler® 480 SYBR Green I Master の安定性。
ヒトのターゲット DNA 配列の 1:10 の段階希釈 (10,000-10 コピー / 反応溶液、3 重測定) は、試薬調製後すぐに PCR を行う (青色曲線) か、あるいは室温でローディングロボットに静置して 24 時間後 (赤色曲線) に PCR を行いました。増幅曲線の形状から、室温での 24 時間の静置による、PCR への悪影響はないことを実証しています。

LightCycler® 480 専用試薬のキーポイント:

- プローブ法から SYBR 法まで、すべての試薬で標準・Fast PCR プロトコルが実施可能。
- 自動化ハイスループットワークフローに対応できる室温下で 24 時間の酵素安定性。
- 多くの試薬で、すぐに使用できるマスターミックスタイプの試薬が利用可能。

ターゲット	試薬	フォーマット	アプリケーション
DNA	LightCycler® 480 SYBR Green I Master (2x concentrated)	SYBR Green I	定性解析/ 定量解析
	LightCycler® 480 High Resolution Melting Master (2x concentrated)	ResoLight 色素	定性解析/ 定量解析
	LightCycler® 480 Genotyping Master (5x concentrated)	加水分解プローブ	融解曲線分析に基づいた 遺伝子変異解析 [※]
	LightCycler® 480 Probes Master (2x concentrated)	加水分解プローブ, UPL プローブ, HybProbe プローブ	定性解析/ 定量解析
	RealTime ready DNA Probes Master (5x concentrated)	加水分解プローブ, UPL プローブ	定性解析/ 定量解析
RNA	LightCycler® 480 RNA Master Hydrolysis Probes	加水分解プローブ, UPL プローブ	ワンステップ qRT-PCR

※ 酵素は 5'-エキソヌクレアーゼ活性を持っていないため、加水分解プローブを用いたエンドポイント変異解析には適しません。

■ 配列非依存の DNA 検出
■ 配列特異的 DNA 検出

▲ 表 2: LightCycler® 480 試薬のアプリケーションエリア。すべての LightCycler® 480 試薬は、dUTP を含んでおり、UNG (ウラシル-DNA-グリコシラーゼ) による処理が可能です。これによって、PCR 産物のキャリーオーバーによる汚染防止処理を実施することができます。



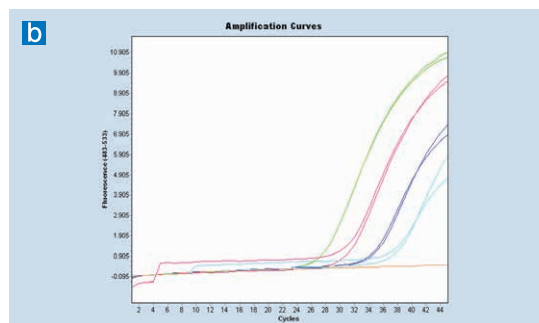
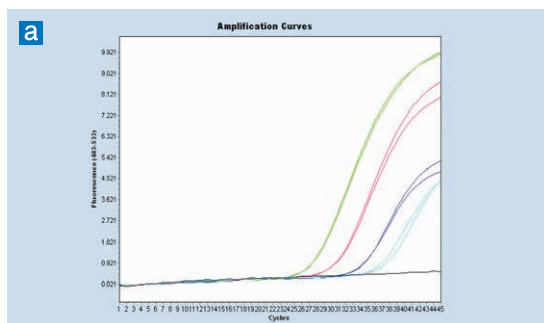
最適化された消耗品

特別に設計された LightCycler® 480 マルチウェルプレートは、サーマルブロックサイクラー・マウントに完全にフィットするようにデザインされています。これによって最大の熱伝導が実現され、最大の PCR 感度および再現性を実現します。また、ホワイトプレートを用いることで、優れたシグナル感度を実現しています。ホワイトプレートは、サーマルブロックマウント部分の蛍光汚染の除去（例：繊維や埃などによる自家蛍光の除去）メンテナンスをすることなく、毎日の PCR データを確実に取得することを可能にします。さらに、バーコードプレー

トと新たに標準装備されたバーコードリーダー機能により、サンプル-データ間のトラッキングの必要性にも簡単に対応可能です。

LightCycler® 480 マルチプレートのキーポイント：

- 特別にデザインされた専用プレートにより、高い PCR 感度と再現性を達成。
- ホワイトプレートを用いて、メンテナンスフリーで、再現性の高いデータ取得。
- プレート添付のバーコードと LightCycler® 480 System II から標準装備されたバーコードリーダーによりトラッキングニーズに対応。



ステップ	温度 (°C)	時間 (a)	時間 (b)	サイクル
逆転写反応	63	3分	3分	1
初期変性反応	95	30秒	30秒	1
変性反応	95	10秒	1秒	45
アニーリング反応	60	30秒	10秒	
伸長反応	72	1秒	1秒	

▲ 表3：LightCycler® 480 RNA Master Hydrolysis Probesを用いたFastプロトコルによるワンステップ RT-PCR アッセイ。HeLa細胞から得たトータルRNA (DNA-free) の段階希釈 (100pgから0.1pg) は、96ウェルプレートで各ウェル20 µL 反応溶液にて2重測定で増幅され、βアクチンの検出はUniversal ProbeLibraryアッセイを用いました。特別なエンハンサー溶液を加えることで、標準PCRプロトコル a)、およびFastプロトコル b) で、同等なクロッシングポイントが得られました。

Ultra-Fast で高感度な RNA 解析

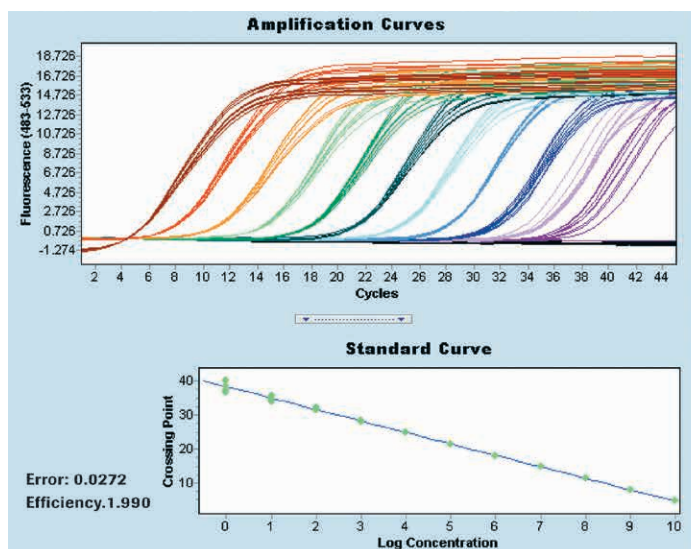
加水分解プローブを用いたワンステップRT-PCRのために、LightCycler® 480機器の迅速かつ正確なサイクリング環境に特化した専用マスターミックスを用意しています。最適化されたバッファーは、従来の方法に比べて大幅に短縮された逆転写反応を可能にすると共に、高い検出感度を維持しています。これによって、非常に正確なりアルタイムPCRデータが、45分未満で得られます。

マルチプレックスアッセイにも対応し、目的遺伝子とリファレンス遺伝子や、複数のDNAあるいはRNAウイルスを同一ウェルで同時に分析するようなアッセイの構築にも対応可能です。

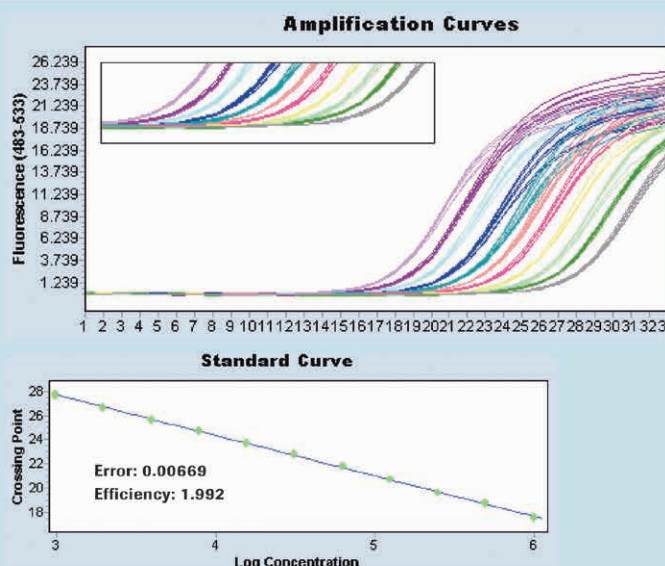
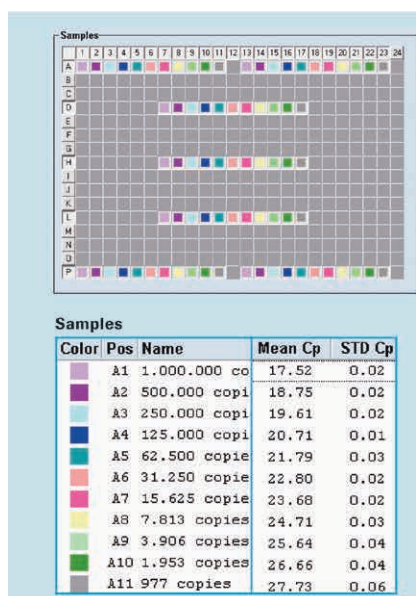
LightCycler® 480 RNA Master とUniversal ProbeLibrary プローブを組み合わせることによって、迅速にアッセイデザインができ、結果もすぐに得られるため、スピードが追求される研究ニーズには理想的なコンビネーションです。

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

優れたダイナミック・レンジ、感度および再現性



◀ 図 8: LightCycler® 480 システムで直線性が得られるレンジ。プラスミド DNA の 1:10 の段階希釈 (各 9 重測定) は、LightCycler® 480 Probes Master で増幅され、UPL プローブで検出されました。PCR の結果は、各希釈サンプルに対して、広いダイナミックレンジ (10 log 間) でその直線性を示し、再現性の非常に高い Cq 値を各複製サンプルで示しています。



▲ 図 9: LightCycler® 480 システムの感度および再現性。ウイルスの目的配列の 1:2 の段階希釈 (各 7 重測定) を LightCycler® 480 SYBR Green I Master を用いてアッセイを行いました。特別なピベッティングスキームに基づいて、各サンプルをプレート全体に分注しました。

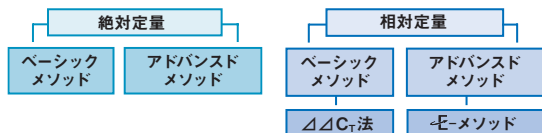
結果から、LightCycler® 480 System II のプレート全体にわたる、高い解像度・感度・再現性そしてデータの均一性が示されました。特に再現性は、各複製サンプル群の Cq 値の均一性および低い変動係数 (CV < 0.2%) によって示されました。

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

遺伝子定量解析への究極の技術革新

遺伝子定量解析のすべてのレンジをカバーするソリューション

LightCycler® 480 System II ソフトウェアは、各種の定量リアルタイム PCR (qPCR) 解析に適した革新的なソリューションをもたらします。絶対定量や相対定量解析法、およびこれらすべてのサブタイプの解析法を LightCycler® 480 System II ソフトウェアは標準装備しています。実績のある独自の LightCycler® アルゴリズムに基づいたソフトウェアにより、信頼性の高い定量データが得られます。



▲ 図 13: 様々な PCR 定量法の概要。

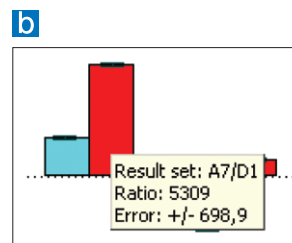
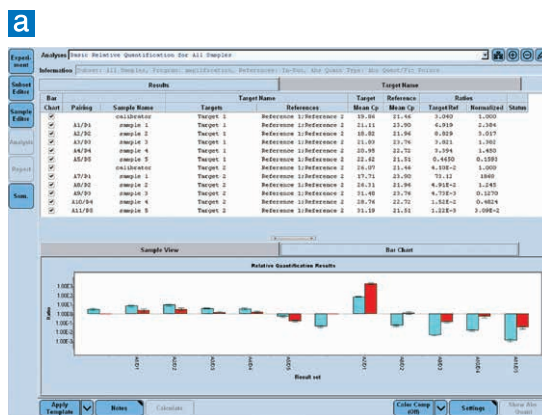
遺伝子発現解析のための優れたパフォーマンス

多機能な相対定量ソフトウェアは、遺伝子発現および遺伝子の定量研究に対して、様々な相対定量ツール (例: 基本的な $\Delta\Delta C_T$ 法、先進的な $-\Delta E$ -メソッド (検量線法)) を提供します。これにより、各々の実験ニーズに応じたグレードのデータの信頼性を選択することができます。

LightCycler® 480 定量ソフト (Quantification Software) のキーポイント

- 簡単な相対定量が行えるベーシックメソッドと複数遺伝子を厳密に比較するアドバンスドメソッドの2つのモードを搭載し、幅広いニーズに対応。
- 相対定量においても、検量線からの PCR 効率が考慮できる $-\Delta E$ -メソッドで最高のデータ精度が獲得可能。
- 1つの PCR 結果から多数の異なる定量解析が行えるフレキシビリティ。

このソフトウェアの基本構造によって、1つの PCR のデータを異なる解析方法を用いて解析し、その各結果を評価することもできます。ロシュ・ダイアグノスティクス社が先進的に採用した、 $-\Delta E$ -メソッドは最も厳密な相対定量アプリケーションに対する、革新的で科学的根拠に基づいたソリューションです。



▲▲ 図 14: 先進的な相対定量解析 ($-\Delta E$ -メソッド)。

- 上部の解析画面には、サンプル情報や選択したリファレンス遺伝子、ペアリングや C_q 値などが表形式で表示されます。下部の解析画面には、目的遺伝子とリファレンス遺伝子の比率 (水色グラフ) や、ノーマライズされた比率 (赤色グラフ) のグラフがエラーバー付きで表示されます。
- 各々の具体的な値はマウスカーソルを合わせることで各々の具体的な値が表示されるため、簡単に確認できます。

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

至高の遺伝子変異解析ソリューション

幅広いニーズに対応する 遺伝子変異解析ツールを提供

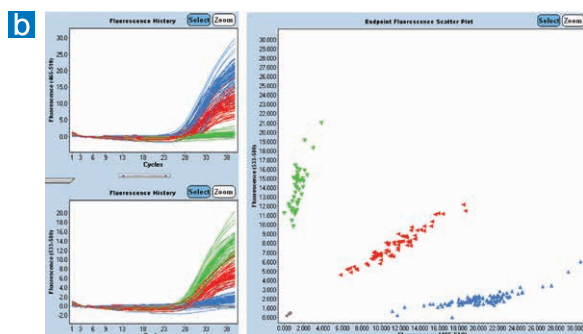
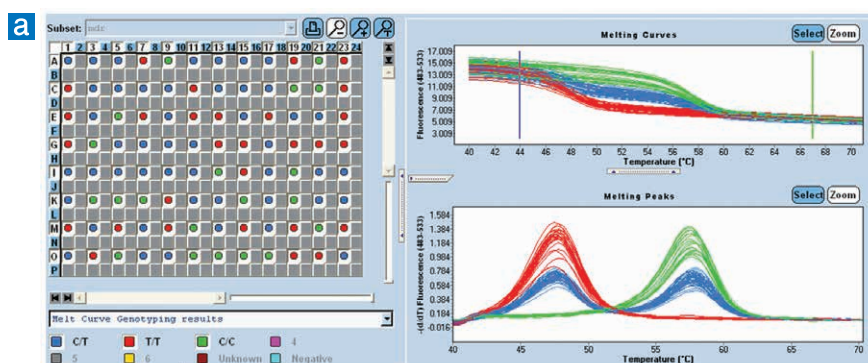
ロシュ・ダイアグノスティックス社が提供するリアルタイム PCR システム 専用 に 開発 された、HybProbe や SimpleProbe プローブ による 融解 曲線 分析法 は、バイアスの 少ない 遺伝子 変異 研究 に対する 信頼性 の 高い 方法 です。キャピラリーベースの LightCycler® システム から 継承 された、高い 温度 均一性 と 非常に 優れた 光学系 によって、これらの 優れた アプリケーション が プレートベースの LightCycler® 480 System II において も 実施 可能です。さらに、一般的な 加水分解 プローブ による エンドポイント 法 も 簡単に 実施 できます。この アッセイ は、2 種類の 蛍光色素 で 別々に 標識 された 加水分解 プローブ を 1 つの ウェル で 競合 PCR を 行い、その 各々の 蛍光シグナル の 優位性 によって、タイピング の 判断 を 行います。LightCycler® 480 System II において、さらに 2 色 検出

に 最適化 された 光学系 により、標準 蛍光物質 による 補正 実験 を 行う ことなく、簡単に 変異解析 を 行う ことができます。

このように、シンプルな エンドポイント 法 から、より 高度な HybProbe など を 用いた 融解 曲線 分析法 による タイピング まで、研究者 の あらゆる 遺伝子 変異解析 の ニーズ を 満た します。

LightCycler® 480 変異解析ソフトウェア (Genotyping Software) のキープイント

- バイアスが少なく、信頼性の高い融解曲線分析を用いた変異解析ツールが標準装備。
- 一般的なエンドポイント変異解析ツールも標準装備。
- 自動的にタイピングされた各グループは色分けされ、また、任意のグループごとにタイピングを変更できるなど、直感的で簡単な操作が可能。



◀▶ 図 15: LightCycler® 480 変異解析ソフトウェアでの SNP 解析。
a) 融解曲線分析法による変異解析: MDR1 の遺伝子多形を SimpleProbe プローブを用いて解析しました。融解曲線分析によって 3 つのジェノタイプ (C/C と T/T のホモ体、C/T のヘテロ体) に正しく分別できました。
b) エンドポイント法による変異解析: LPLH3 の遺伝子多形を加水分解プローブを用いて解析しました。増幅曲線と散布図に示されているように、各ジェノタイプを正しく分別できました。

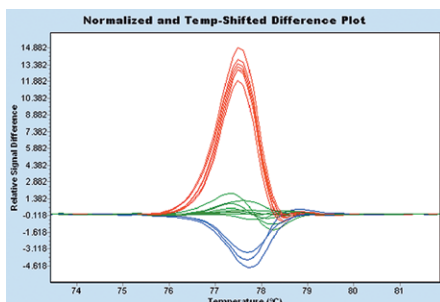
LightCycler[®] 480 リアルタイム PCR システム

プレートフォーマットでの高解像度融解曲線解析 (High-Resolution Melting)

ミュレーションディスカバリーへの便利なツール

高解像度融解曲線解析(High-Resolution Melting(HRM))によって、PCR産物などのDNAフラグメント上の配列多様性(例:SNPs、変異、メチル化)を、迅速で効果的に見出すことができます。プレートベースのシステムによって、ハイスループットでのHRM解析を実施できます。また、別途PCRを実施したり、別々の機器を介するような方

法(例: dHPLC)に比べて、手間やコストがかかりません。LightCycler[®] 480 System IIを用いた、HRMに代表される遺伝子スキャニングアプリケーションのため、新規の飽和型DNA結合蛍光色素であるResoLightを含む、専用試薬(LightCycler[®] 480 High Resolution Melting Master)も用意しています。優れた性能の機器と専用のシステム試薬から構成されるLightCycler[®] 480 System IIで、簡便に再現性の高い結果を得ることができます。

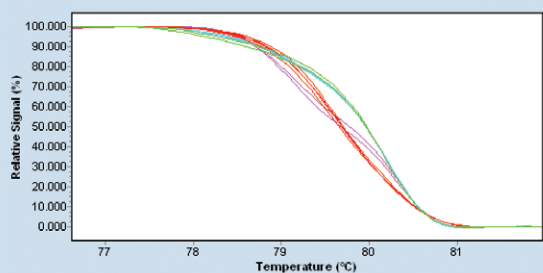


▲ 図 16: LightCycler[®] 480 Gene スキャニングソフトウェアは、HRM カーブの形状によって、野生型と変異型にタイピングします。血液検体から単離したゲノムDNAをLightCycler[®] 480 High Resolution Melting Masterを用いてPCRを行い、A/T多型(rs723858)を伴うヒトTNF SF18遺伝子フラグメントを増幅しました。ディファレンシャルプロットによって、野生型(A/A、緑)、変異型(T/T、青)およびヘテロ型(A/T、赤)に分別できました。この解析法では、選択された1つのリファレンス曲線と各々の曲線との差分がプロットされ、各形状の類似性に基づいて自動的にグルーピングされます。

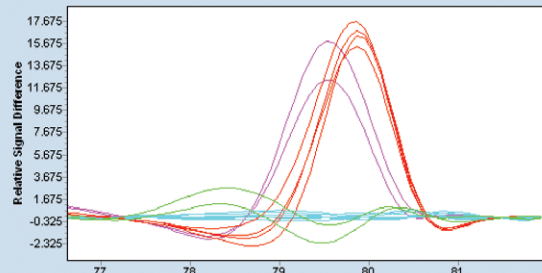
LightCycler[®] 480 の遺伝子スキャニングソリューションのキーポイント:

- 96 および 384-ウェルプレートで PCR から HRM 解析までをシームレスに1つの機器で行えるトータルソリューションシステム。
- プレートベースのハイスループット HRM アッセイがわずかな時間 (HRM アッセイだけなら最短 10 分以内、解像度の高いアッセイでも約 40 分) で実施可能。mutant/mutation スキャニングアッセイにも最適。
- 新規に開発された PCR を阻害しない飽和型 DNA 結合蛍光色素を含む専用試薬から機器、ソフトウェアにより、簡便で再現性の高い HRM 解析が実施可能。
- 温度制御機構に Thermo-Base とシルバーブロックを採用し、均一な温度制御で正確な HRM 解析が可能。
- さらに改善された解析アルゴリズムにより、手間なく簡単にタイピング。

a ノーマライズ、温度シフトされた融解曲線



b ノーマライズ、温度シフトされたディファレンシャルプロット



▲ 図 17: ヒト CFTR 遺伝子の変異を HRM 解析しました。

- a) ヒト CFTR 遺伝子の 198bp のフラグメントを、LightCycler[®] 480 High Resolution Melting Master を使って増幅し、HRM 解析を行いました。
b) ディファレンシャルプロット分析により、ホモサンプル(青)のほかに、3個の異なるヘテログループ(赤、ピンク、緑)が明らかとなりました。データは次の方々のご好意で提供されました; Dr. Peter Bauer, Dr. Stefanie Beck-Wödl, University Hospital of Tübingen, Germany.

LightCycler® 480 リアルタイム PCR システム

包括的な機器サポートおよび学術サポートサービス

ロシュ・ダイアグノスティックス社は、ほぼ 15 年にわたり、リアルタイム PCR 機器の革新的な開発を行ってきました。私たちはこの膨大なノウハウに基づいて、お客様の多種多様な要求に応えるために、プロフェッショナルなサービスを提供いたします。

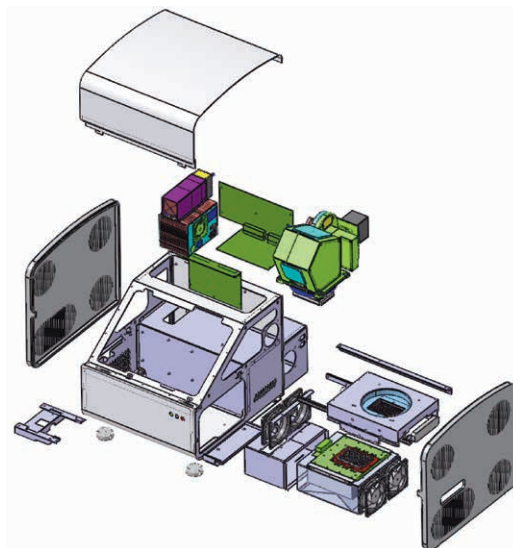
ユニークな機器設計により真のメンテナンスフリー

LightCycler® 480 機器のモジュール設計は、簡単で迅速な保守サービスが可能です。

また、これによって真のメンテナンスフリーが実現し、日々の煩わしいメンテナンスからお客さまを解放することができました(様々なメンテナンスやそれに伴うキャリブレーションなど)。さらに、日々の機器管理を助けるために、毎起動時に実施される機器セルフテストの結果を出力する機能も備えています。

LightCycler® 480 のサービス

ロシュ・ダイアグノスティックス社は、世界的にプロフェッショナルなサービスチャンネルを持ち、革新的システムを提供することに努めています。これによって、世界中のお客様に安定した機器および学術サポートを提供できます。



LightCycler® 480 サービスには次のものが含まれます:

- LightCycler® 480 の最新情報を提供するウェブサイト。
- リアルタイム PCR や LightCycler® 480 に関する学術的な顧客サポート。
- IQ/OQ/PQ サービスを提供する Q³ Qualification サービスパッケージ (オプション)。^{1,2)}
- LightCycler® 480 システム保守契約 (オプション)。²⁾

- 1) LightCycler® 480 システム Q³ Qualification サービスパッケージは 3 つのサービスモジュールから構成されています: 機器据付時に実施する IQ/OQ (据付時適格性評価/稼動性能適格性評価)、そして設置後に実施される OQ と PQ (稼動時適格性評価) から成ります。さらに、詳細なレポートや機器証明書を含む必要なすべての書類も含まれます。
- 2) これらのサービスのさらに詳細につきましては、ロシュ・ダイアグノスティックス社までお問い合わせください (電話番号: 03-5443-5287)。

LightCycler® 480 System II 仕様

サイズ	幅 60cm × 奥行き 60cm × 高さ 54.5cm
重量	55.6 kg
消費電力	AC 200–240 V (50/60Hz、1500 W)
反応液量	5 µL–20 µL (384-well), 10 µL–100 µL (96-well)
温度制御	ペルティエ素子/Therma-Base 方式, 温度制御レンジ: 37–95°C
加熱速度 (最大)	4.8°C /s(384-well), 4.4°C /s(96-well)
冷却速度 (最大)	2.5°C /s(384-well), 2.2°C /s(96-well)
励起光源	Broad spectrum high intensity LED (390–710 nm)
検出器	冷却モノクロ CCD カメラ
フィルタ	励起波長 (nm) : 440, 465, 498, 533, 618 検出波長 (nm) : 488, 510, 580, 610, 640, 660
コンピュータ	Windows 10 PC
ソフトウェア構成	LightCycler® 480 ソフトウェア ・絶対定量・相対定量モジュール ・遺伝子変異解析モジュール (融解曲線分析法・エンドポイント解析法) LightCycler® 480 Gene スキャニングソフトウェア (オプション)
自動化システム	LightCycler® 480 LIMS インターフェイスモジュール (オプション) 内部バーコードリーダー標準装備 自動プレートローディング機能
データマネージメント	21 CFR Part 11 対応

LightCycler® 480 System II には以下のものも含まれます。

- LightCycler® 480 システムの設置。
- LightCycler® 480 システムのお客様トレーニング。
- 総合的な LightCycler® 480 のオペレーションマニュアル。
- 最高の LightCycler® 480 システム・ユーザサポート。



本製品はライフサイエンス分野の研究のみを目的としています。
For life science research only. Not for use in diagnostic procedures.

Trademarks

LIGHTCYCLER, REALTIME READY, MAGNA PURE, HIGH PURE, HYBPROBE, and SIMPLEPROBE are trademarks of Roche.

SYBR is a registered trademark of Life Technologies Corporation. EXIQON, LNA, PROBEFINDER, and PROBELIBRARY are registered trademarks of Exiqon A/S, Vedbaek, Denmark. All other product names and trademarks are the property of their respective owners.

Limited Label Licenses and Disclaimers

NOTICE: This product may be subject to certain use restrictions. Before using this product please refer to the Online Technical Support page (<http://technical-support.roche.com>) and search under the product number or the product name, whether this product is subject to a license disclaimer containing use restrictions. The technology used for the LightCycler® System is licensed from Idaho Technology Inc., Salt Lake City, UT, USA.

オーダーインフォメーション

LightCycler® 480 機器およびオプション製品

製品	製品番号	包装単位
LightCycler® 480 インストルメント II, 96-well	05 015 278 001	1台 ¹⁾
LightCycler® 480 インストルメント II, 384-well	05 015 243 001	1台 ¹⁾
LightCycler® 480 ブロックキット 96 シルバー	05 015 219 001	1キット ²⁾
LightCycler® 480 ブロックキット 384 シルバー	05 015 197 001	1キット ²⁾
LightCycler® 480 バーコードスキャナ	04 710 606 001	1個
LightCycler® 480 ソフトウェア Ver. 1.5.1	04 994 884 001	1個
LightCycler® 480 マルチウェルプレート 96 ホワイト	04 729 692 001	5×10プレート (シーリングホイルを含む)
LightCycler® 480 マルチウェルプレート 384 ホワイト	04 729 749 001	5×10プレート (シーリングホイルを含む)
LightCycler® 480 シーリングホイル	04 729 757 001	50枚
LightCycler® 8-Tube Strips Adapter Plate	06 612 598 001	1枚
LightCycler® 8-Tube Strips ホワイト	06 612 601 001	10×12 strips & caps

- 1) システムパッケージには、LightCycler® 480機器 (制御PCを含む)、LightCycler® 480サーマルブロックサイクラーユニット (96-ウェルまたは384-ウェル)、LightCycler® 480ソフトウェア、LightCycler® 480オペレーターマニュアルが含まれます。
- 2) キットパッケージには、LightCycler® 480サーマルブロックサイクラーユニット (96-ウェルまたは384ウェル)、ブロックサイクラーカバー、ストレージボックスが含まれます。

LightCycler® 480 の試薬および関連製品

製品	製品番号	包装単位
LightCycler® 480 SYBR Green I Master (2×Concentrated)	04 707 516 001	5×1 mL (20 µL反応液×500回)
	04 887 352 001	10×5 mL (20 µL反応液×5000回)
LightCycler® 480 Probes Master (2×Concentrated)	04 707 494 001	5×1 mL (20 µL反応液×500回)
	04 887 301 001	10×5 mL (20 µL反応液×5000回)
	04 902 343 001	1×50 mL (20 µL反応液×5000回)
LightCycler® 480 Genotyping Master (5×Concentrated)	04 707 524 001	4×384 µL (20 µL反応液×384回)
LightCycler® 480 High Resolution Melting Master	04 909 631 001	5×1 mL (20 µL反応液×500回)
LightCycler® 480 Control Kit	04 710 924 001	1キット (3回分)

製造販売元: **ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社**

国内総販売元:



日本ジェネティクス株式会社

〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-14 後楽森ビル18階

TEL 03 (3813) 0961 <https://n-genetics.com>

FAX 03 (3813) 0962 info@genetics-n.co.jp