

MILLIPLEX®キットにおける組織サンプル測定

イントロダクション

弊社の MILLIPLEX® キットは、固有の蛍光シグナルを生じる複数種類の磁性マイクロビーズにそれぞれ捕捉抗体を結合させることで、各抗体が標的とする複数のターゲットを同時に測定することが可能なマルチプレックスアッセイキットです。一部の例外を除き、主な MILLIPLEX® キットは血清・血漿・培養上清サンプルに対して検証がされており、製品プロトコールにはこれらサンプル調整の情報が掲載されています。一方で、組織や細胞の抽出液で測定を実施したいとお問い合わせも多くいただきます。組織・細胞抽出液につきましては、主な MILLIPLEX® キットでは検証されていないサンプルタイプとなっているため、希釈倍率を含む実験条件は基本にご実験者様にご検討頂く形となります。しかしながら、アッセイの原理的に測定自体は可能と考えられており、過去の知見や経験から弊社では測定のガイドラインを提供しております。本稿では、組織・細胞抽出液サンプルを MILLIPLEX® キットで測定する場合のガイドラインをご案内いたします。

組織・細胞抽出液サンプル測定のガイドライン

組織・細胞抽出液サンプルの調整については、以下のガイドラインを参考に条件をご検討ください。

組織・細胞抽出液サンプル調整のガイドライン（原文）

There is no defined protocol that we recommend for tissue extraction as this may differ for different tissue types and/or analyte one may wish to measure. Generally, most protocols that are used in ELISAs can be used, but here are some guidelines in selecting a method.

- 1) Homogenize cells or tissues mechanically (eg. Ultrasonication) in a PBS based buffer containing protease inhibitors (like aprotinin or an inhibitor cocktail) and low (< 0.2%) non-ionic detergent concentration.
- 2) Extraction medium should not contain any organic solvents like DMSO etc.
- 3) Centrifuge the extract and store the supernatant at < -20 C.
- 4) Use the extraction medium as matrix in blank, standard curve and QCs.

特に以下のポイントにご留意いただき、サンプルを調整してください。

- ・イオン性界面活性剤（SDS など）や有機溶媒（DMSO など）の使用を避ける
- ・非イオン性界面活性剤は 0.2%未満の濃度で使用し、濃度が高い場合はキット付属の Buffer で希釈する
- ・遠心により十分に不溶成分を取り除く（10000g で 10 分程度が目安となります）
- ・Matrix solution には Lysis Buffer を使用する（サンプルを希釈した場合は Matrix solution も同様に希釈して使用する）

参考文献

MILLIPLEX® キットで、組織・細胞抽出液を測定している文献の一部をご紹介します。

1. [Insulinitis and characterisation of infiltrating T cells in surgical pancreatic tail resections from patients at onset of type 1 diabetes](#). Lars Krogvold et al., *Diabetologia*. 2016; 59:492–501.
2. [Nilotinib and bosutinib modulate pre-plaque alterations of blood immune markers and neuro-inflammation in Alzheimer's disease models](#). I. Lonskaya et al., *Neuroscience*. 2015 Sep 24;304:316-27.
3. [Cranial irradiation significantly reduces beta amyloid plaques in the brain and improves cognition in a murine model of Alzheimer's Disease \(AD\)](#). Brian Marples et al., *Radiother Oncol*. 2016; 118(3):579-80.
4. [Helicobacter infection alters MyD88 and Trif signalling in response to intestinal ischaemia-reperfusion](#). Hoffman SM et al., *Exp Physiol*. 2011; 96(2):104-13.
5. [Nod-like receptor pyrin containing 3 \(NLRP3\) in the post-mortem frontal cortex from patients with bipolar disorder: A potential mediator between mitochondria and immune-activation](#). HK Kim et al., *Journal of Psychiatric Research*, Volume 72, January 2016, Pages 43-50
6. [Aldose reductase regulates doxorubicin-induced immune and inflammatory responses by activating mitochondrial biogenesis](#). H Sonowal et al., *European Journal of Pharmacology*, Volume 895, 15 March 2021, 173884
7. [The JAK2 Inhibitor AZD1480 Potently Blocks Stat3 Signaling and Oncogenesis in Solid Tumors](#). Michael Hedvat et al., *Cancer Cell*, Volume 16, Issue 6, 8 December 2009, Pages 487-497

メルク株式会社

ライフサイエンス サイエンス & ラボソリューションズ事業本部 〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

E-mail: jpts@merckgroup.com Tel: 03-4531-1140

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2023年2月時点の情報です。©2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

Lit. No. TSM066-2302-K