

TAKARA

Smart Cycler[®] II



SmartCycler[®] II



より高性能に、より多機能に 次世代のリアルタイムサーマルサイクラー

リアルタイムPCRは、
遺伝子研究分野において今や必要不可欠な技術です。
Smart Cycler® II Systemは、今後さらに応用範囲が広がるリアルタイムPCRに、
柔軟に対応できるサーマルサイクラーです。

多様化する研究ニーズにフレキシブルに対応

Smart Cycler® II System がさまざまな研究に柔軟に対応できる秘密は、I-CORE™モジュールにあります。Smart Cycler® II Unitには、このI-CORE™モジュールが16個装備されており、それぞれが独立しているため、16種の異なった反応を同時に行うことができます。また、複数の実験を異なった時間にスタートすることもできるため、1台のSmart Cycler® II Systemを複数の研究者が共有することも可能です。

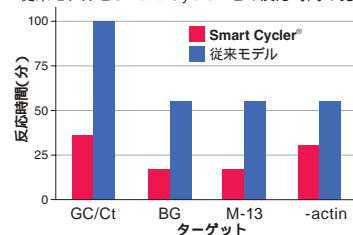
リアルタイムモニタリング

Smart Cycler® II System は、各種蛍光標識プローブ(サイクリングプローブ、TaqMan® プローブ、Molecular Beacon)やインターカレーター(SYBR® Green I)を用いたリアルタイムPCRが可能です。Smart Cycler® II Systemのソフトウェアは、各I-CORE™モジュールの蛍光シグナルを個別にモニタリングすることができます。リアルタイムに増幅曲線が表示され、蛍光強度があらかじめ設定されたthreshold levelを越えると、増幅産物の存在を認識します。また、Advance to Next Stage機能により、増幅のphase(時相)が揃ったサンプル同士を比較することもできます。

スピーディーな環境設定で研究効率をアップ

Smart Cycler® II Unitは、反応液を目標温度へ迅速かつ正確に到達させることができるため、反応時間を大幅に短縮できます。また、ランプ・レート(加熱・冷却速度)も設定可能です。すばやい温度変化とリアルタイム検出、さらに1回の実験で多様な反応と蛍光検出が可能のため、研究効率が飛躍的に向上します。

従来モデルとSmart Cycler®との反応時間の比較



4波長同時励起/検出

Smart Cycler® II Unit中のI-CORE™モジュールには、半導体素子から成る光学系ユニットがあり、異なった4種類の波長を励起/検出します。また、複数の蛍光色素を使用すれば、1つの反応液中のターゲットを4種類まで同時に検出することができます。

Smart Cycler® II Systemで使用可能な蛍光試薬

Channel	1	2	3	4
Excitation(nm)	450 ~ 495	500 ~ 550	565 ~ 590	630 ~ 650
Emission(nm)	510 ~ 527	565 ~ 590	606 ~ 650	670 ~ 750
Simplex Dyes	FAM™, SYBR® Green I	Cy™3, TET	Texas Red®, ROX™	Cy™5
Multiplex Dyes	FAM™	Cy™3, TET	Texas Red®, ROX™	Cy™5

1つのシステムで複数のSmart Cycler® II Unitを制御可能

Smart Cycler® II Systemは、1システムあたりSmart Cycler® II Unitを6台まで増設できるため、最大96サンプルのリアルタイムPCRが可能となります*。
(基本システムではSmart Cycler® II Unitを3台まで増設でき、最大48サンプルのリアルタイムPCRが可能)

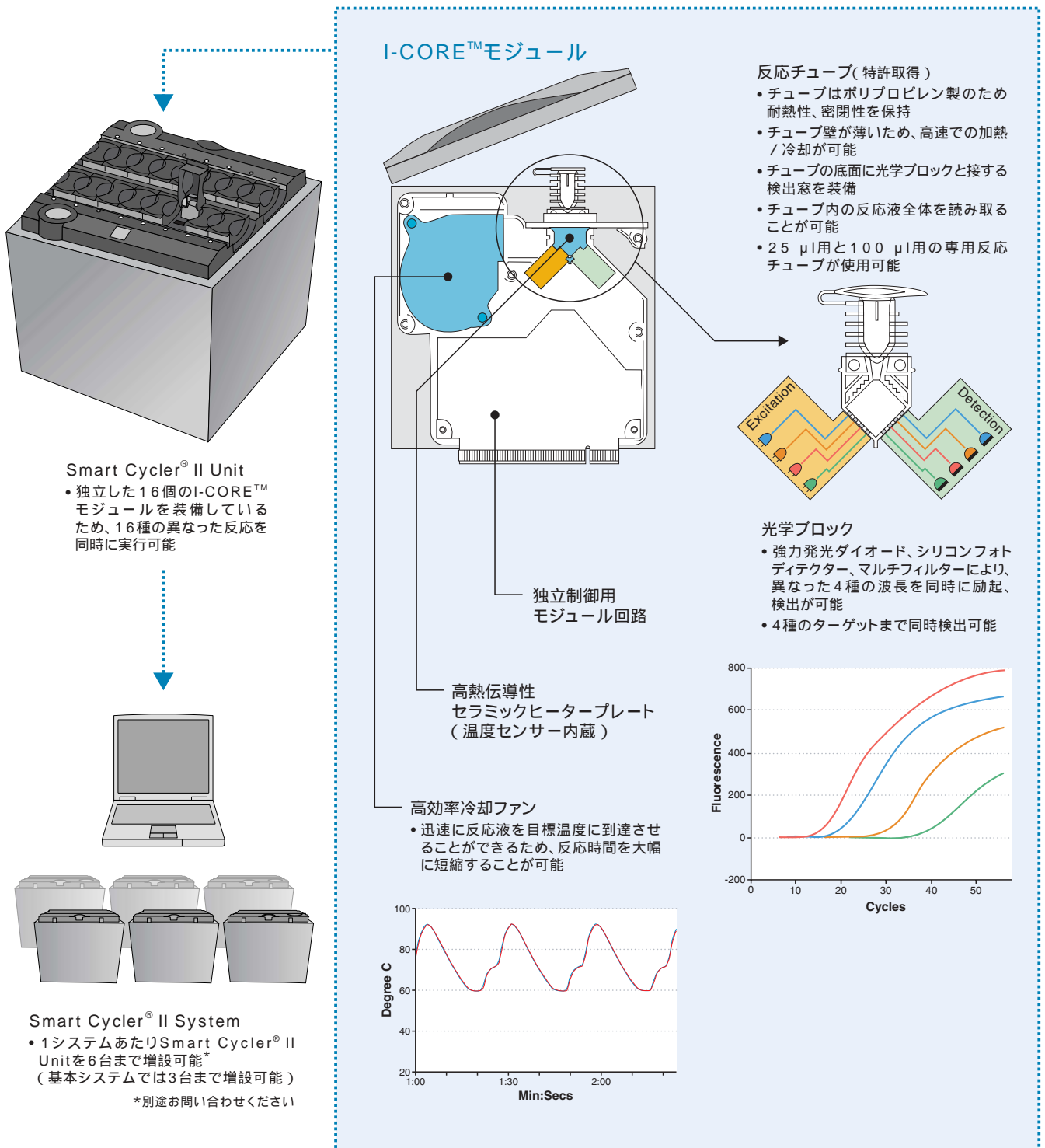
*別途お問い合わせください。

I-CORE™ モジュールが よりフレキシブルなPCRを実現します。

Smart Cycler® II Unitは、独立した16個のI-CORE™ (Intelligent Cooling / Heating Optical Reaction : 特許取得)モジュールで構成されています。

このI-CORE™モジュールには、加熱/冷却機能および検出用の光学ブロックが内蔵されており、16個のモジュールをそれぞれ独立して制御することができるため、1台のSmart Cycler® II Unit内で、同時に16種類の異なったプロトコルでPCRを行うことができます。また、複数の実験を異なった時間にスタートすることもできるため、1台のSmart Cycler® II Systemを複数の研究者が共有することも可能です。

Smart Cycler® II Systemダイアグラム



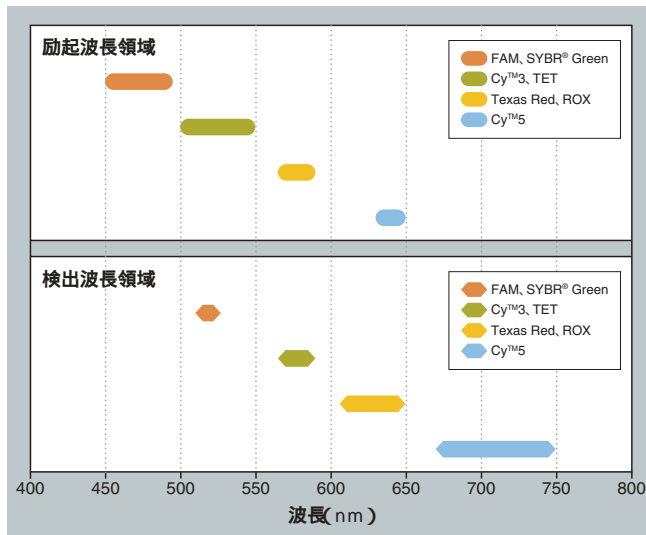
ハイパフォーマンスなSmart Cycler® II Systemは、次世代のリアルタイムサーマルサイクラーです。

これまで煩雑な操作や多大な時間が要求されてきた実験でも、画期的なI-CORE™モジュールが搭載されたSmart Cycler® II Systemを研究室に導入することにより、よりスピーディーに進めることが可能になります。

また、16種類の異なった反応を異なった時間に行えるだけでなく、16個すべてのモジュールで得られたデータをリアルタイムでモニターすることも可能です。もちろん、これらのデータをもとに、温度変化、増幅曲線や融解曲線などをチャート化することもできます。

■ 4種類の波長を同時に検出

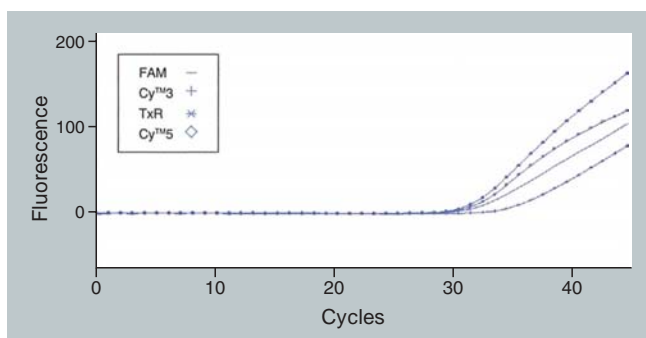
Smart Cycler® IIの光学系ユニットは、異なった4種類の波長を同時に励起、検出することができます。そのため、1回の反応で多くの情報を得ることができます。また、従来のSmart Cycler®に比べ、隣接したチャンネル間でも、よりクロストークの少ない検出が可能になりました。



I-CORE™モジュールの各チャンネルの励起・検出波長領域

■ シングルチューブ多重検出

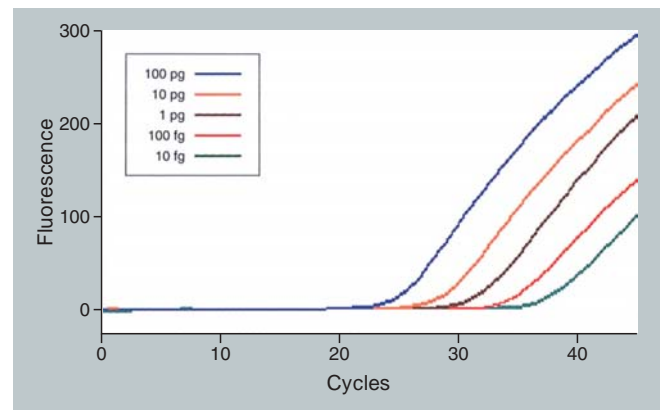
複数の蛍光試薬を使用することで、1つの反応液中で4種類のターゲットまで同時に検出することが可能です。そのため、目的遺伝子以外の内部標準遺伝子なども同一の反応液で定量することができ、研究効率の向上にも役立ちます。また、さまざまなプローブ(サイクリングプローブ、TaqMan® プローブ、Molecular Beaconなど)や蛍光試薬が使用でき、フレキシブルなマルチプレックスPCRに対応できます。



4種類の蛍光色素(FAM™, Cy™3, Texas Red®(TxR), Cy™5)を用いて、4種類のターゲットを同時に増幅、検出した例です。

■ 増幅産物を高感度に検出

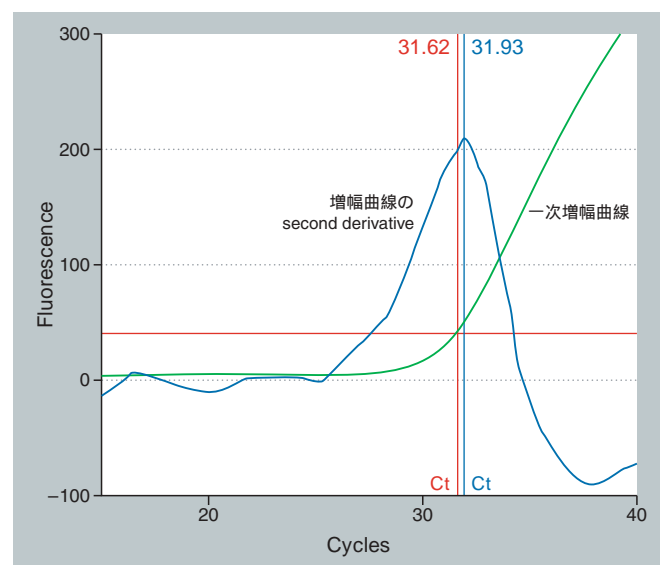
Smart Cycler® II Systemは、ターゲット遺伝子の濃度が低い場合でも、鋭敏に蛍光シグナルを検出することができます。



100 pgから10 fgまで10倍段階希釈したサンプルを用いて増幅、検出した例です。

■ Threshold cycle(Ct値)の検出方法

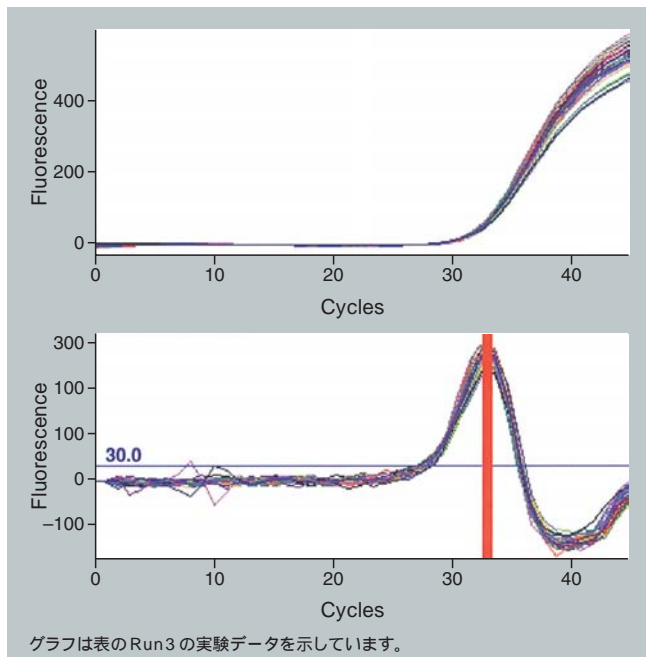
定量PCRでは、目的遺伝子の増幅のモニタリングが、バックグラウンド値から指数関数的増大へと変化する時のサイクル数(Threshold cycle:Ct)を検出する必要があります。Smart Cycler® II Systemでは、「一次増幅曲線の蛍光値から算出する方法」と「増幅曲線のsecond derivativeでの最大値から算出する方法」の2通りからCt値の検出方法を選択することが可能です。なおthresholdの設定は、それぞれのCt値の検出方法において「自動設定」と「マニュアル設定」が選択可能です。



■ 再現性と均一性に優れた実験結果

Smart Cycler® II Systemは、チューブ内の反応温度を正確に制御できるため、再現性の高い増幅、検出が可能です。また、モジュール間の温度均一性にも優れているため、増幅効率の差はほとんどみられません。

ここでは、32個のI-CORE™ モジュール(2台のSmart Cycler® II Unitを使用)で反応を行い、Threshold cycleにおける各モジュール間での精度の比較を行いました。



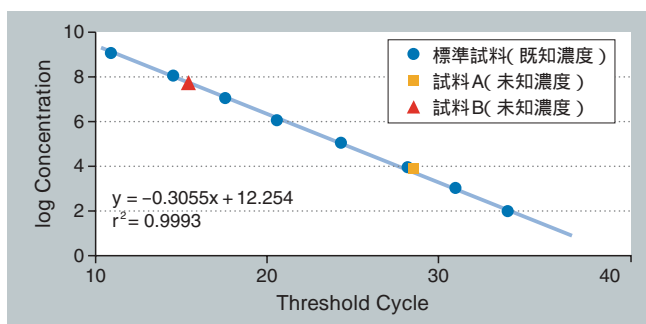
32個のI-CORE™モジュールを用いた実験結果の比較

Run	N	平均Ct値	標準偏差	変動係数(% CV)
1	32	33.2	0.14	0.43
2	32	33.2	0.13	0.39
3	32	33.3	0.17	0.51
Total	96	33.2	0.16	

■ 検量線を用いた未知濃度の試料の定量分析

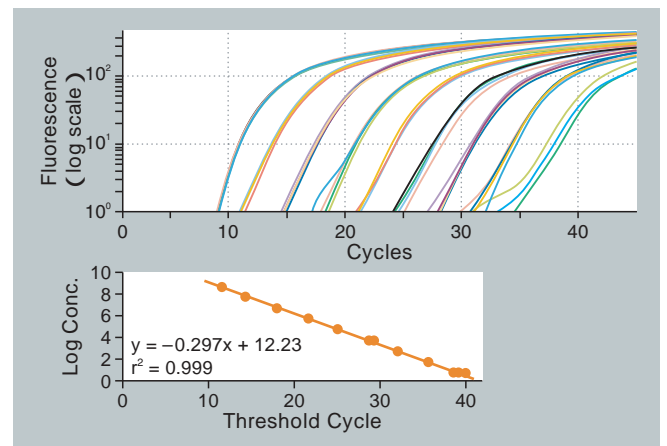
種々の濃度の標準試料のThreshold cycleを横軸にとり、初発の濃度(対数表示)を縦軸にプロットすることで、検量線を描くことができます。Threshold cycleと初発の濃度が比例関係にある範囲が定量有効範囲(ダイナミックレンジ)となります。

また、検量線の相関係数から定量結果の精度を判断することも可能です。図は、M13mp18 RF DNAの定量分析を行った結果です。



■ 幅広い測定レンジ

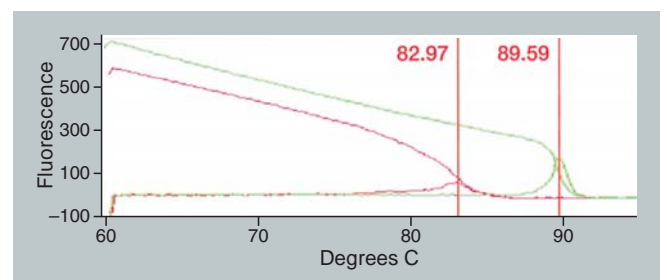
リアルタイムPCRを用いた定量分析(ときには定性分析)を行う際にダイナミックレンジを調べることは、正確な分析を行う上で非常に重要です。ダイナミックレンジは、使用する反応液組成やプライマー、ターゲットなどの条件によって変化します。ダイナミックレンジを調べるには、分析したいターゲットについて鋳型を高濃度のものから段階希釈し、その鋳型を用いてリアルタイムPCRを行います。Smart Cycler® II Systemでは、幅広い濃度範囲で、ターゲットの蛍光シグナルを検出することができます。したがって検量線作成の際には、幅広いレンジにわたってデータをプロットでき、未知濃度のサンプルの定量を広範囲で精度よく行うことが可能です。



ターゲットを $10^1 \sim 10^9$ コピーまで段階希釈し、各濃度で4サンプルずつ用いて蛍光シグナルを検出した例です。検量線は横軸にthreshold cycle、縦軸に濃度を取り、作成した例です。

■ 精度を高める融解曲線分析

SYBR® Green IIはすべての二本鎖DNAに挿入されるため、目的の増幅産物以外の非特異的増幅産物をも蛍光シグナルとして検出します。そこで、PCR終了後、反応液の温度を徐々に上げ、増幅産物を徐々に一本鎖に変性させます。これにともない、二本鎖DNAに結合していたSYBR® Green IIが離れ、蛍光値も徐々に低下していきますが、各増幅産物が固有の融解温度(T_m 値)に達すると、残っていた二本鎖が急激に一本鎖に変性し、蛍光値も急激に低下します。 T_m 値はDNA鎖長の影響を受け、各増幅産物の T_m 値の差を調べることで、非特異的増幅産物の有無を確認することができます。

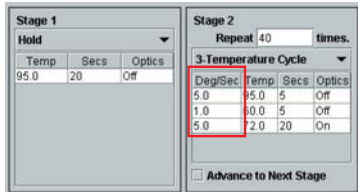


ヒトゲノムDNAを鋳型にして -globin遺伝子の増幅を行った後に、融解曲線を調べたところ、-globin増幅産物の融解温度は89.59、非特異的産物では82.97 という結果が得られました。

多様な機能を備えたソフトウェアVersion 2.0は、高度な研究ニーズに応えることができます。

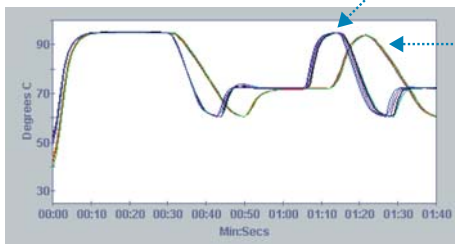
■ ランプ・レート(加熱・冷却速度)の設定可能

加熱時5 /sec以下、冷却時2.5 /sec以下の範囲でランプ・レートを設定することができます。したがって、急激な温度変化に影響を受けやすいサンプルにも対応することができます。



ランプ・レートの設定

ランプ・レート設定なし

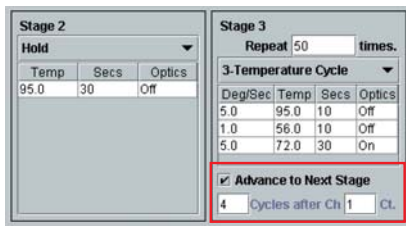


ランプ・レート設定あり(加熱5 /sec、冷却1 /sec)

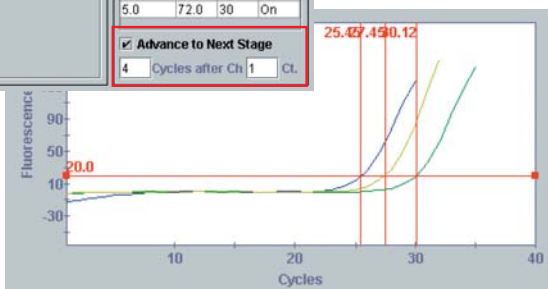
ランプ・レートを設定したときの温度変化

■ Advance to Next Stage機能

ターゲットの増幅曲線がCt値に到達した後、設定したサイクル数だけPCR反応を繰り返して、次のステージへスキップさせることができるため、反応が早く終了します。これにより、融解曲線あるいは電気泳動で増幅産物を確認する際に、増幅のphase(時相)が揃ったサンプル同士を比較することができます。また、過度の増幅による非特異的産物の生成が抑えられるので、正確な融解曲線分析が行えます。



Advance to Next Stageの設定



Advance to Next Stageを設定したときの増幅曲線

■ Import STD Curve機能

別の実験で作成した検量線を使って定量を行うことができます。また、取り込んだ検量線を用いて作成したデータを保存することもできます。

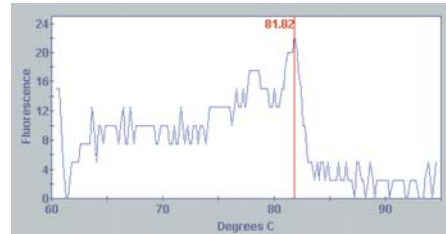
Site	Protocol	Sample ID	Sample Type	Notes	Status	Std	Sy Cl	Melt
A9	OneSTEP 3A2 100	STD			OK	100.00	18.60	80.98
A10	OneSTEP 3A2 10	STD			OK	100.00	23.59	81.14
A11	OneSTEP 3A2 1	STD			OK	10.00	28.75	80.97
A12	OneSTEP 3A2 0.1	STD			OK	1.00	32.07	81.02
A1	OneSTEP A	UNKN			OK	25.816	28.30	75.78
A2	OneSTEP B	UNKN			OK	32.012	25.95	81.20
A3	OneSTEP C	UNKN			OK	36.575	25.70	81.14
A4	OneSTEP D	UNKN			OK	2.286	30.50	81.22
A5	OneSTEP E	UNKN			OK	7.288	28.73	81.45
A6	OneSTEP F	UNKN			OK	7.487	29.68	81.49

取り込んだ検量線のデータ

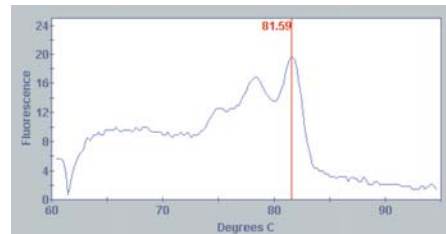
定量結果

■ 融解曲線のスムージング機能

従来のSmart Cycler® Systemに比べ、より滑らかに融解曲線が描けるようになりました。



スムージングなし

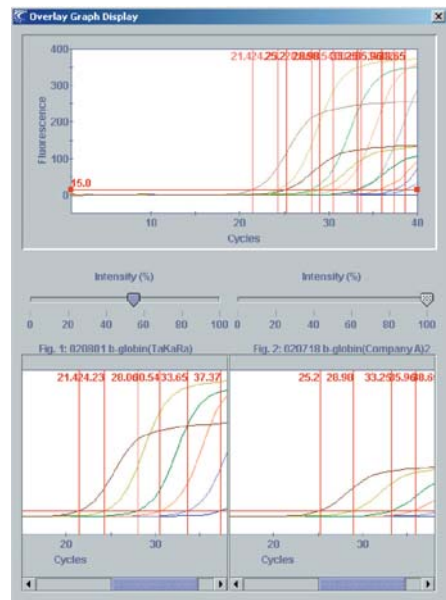


スムージングあり

■ Compare Run機能

別々の実験から得られたグラフを同一画面に表示させることができます。

また、お互いのグラフを重ね合わせて表示することも可能です。



■ セキュリティー面の充実

Smart Cycler® II Systemを登録ユーザーしか使用できないように設定することができます。また、登録ユーザー間でも他のユーザーのデータを閲覧禁止にすることもできます。

■ グラフの画像ファイル化

増幅曲線、融解曲線などのグラフを画像ファイル(JPEG形式)で保存することができます。レジェンドの有無も選択可能です。

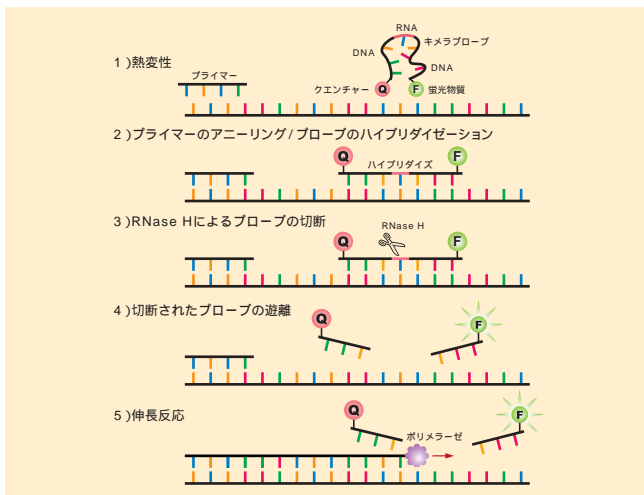
リアルタイムPCRモニタリングのための蛍光検出法

リアルタイムPCRとは、DNAの増幅量をリアルタイムでモニターしながらPCRを行う方法です。リアルタイムPCRは、これまでのPCRと電気泳動を組み合わせたDNAの検出に比べ、(1)電気泳動が不要、(2)反応サイクルの途中でも増幅の様子が確認可能、(3)定量的な結果が得られる、などの利点をもっています。

通常、リアルタイムPCRのモニターは蛍光試薬を用いて行います。蛍光検出法にはいくつかの方法がありますが、SmartCycler® II Systemを使用すれば、以下の方法を選択することができます。

1 サイクリングプローブ法

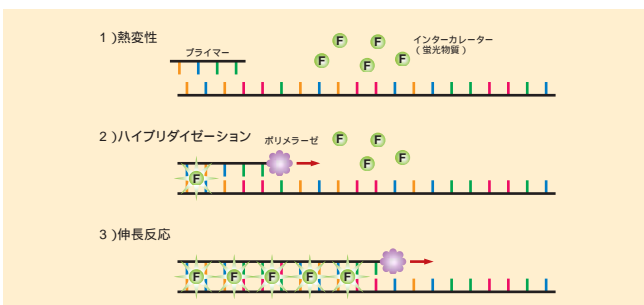
RNAとDNAからなるキメラプローブとRNase Hを組み合わせた高感度な検出法で、増幅中や増幅後の遺伝子断片の特定配列を効率良く検出できます。プローブはRNA部分を挟んで一方が蛍光物質で、もう一方がその蛍光物質の発する蛍光を消光する物質(クエンチャー)で標識されており、インタクトな状態ではクエンチングにより蛍光を発することはありませんが、増幅産物中の相補的な配列とハイブリッドを形成した後にRNase HによりRNA部分で切断されることにより、強い蛍光を発します。プローブのRNA部分がミスマッチであればRNase Hにより切断されることはないで、一塩基の違いも識別できる非常に特異性の高い検出方法です。



2 インターカレーター法

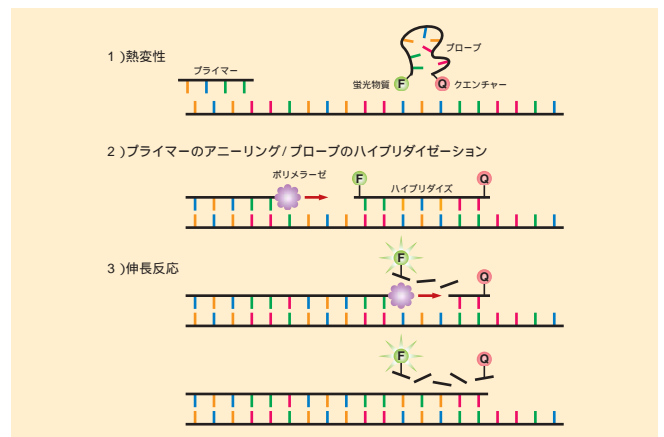
二本鎖DNAに挿入されることで蛍光を発する試薬(インターカレーター:SYBR® Green Iなど)を反応系に加え、増幅にともなう蛍光を検出する方法です。

ポリメラーゼ反応によって合成された二本鎖DNA中にインターカレーターが挿入されると、蛍光を発します。この蛍光強度を検出することで、定量だけでなく増幅DNAの融解温度を測定することもできます。



3 TaqMan®プローブ法

5'末端を蛍光物質(FAM™など)で、3'末端をクエンチャー物質(TAMRAなど)で修飾したオリゴヌクレオチドを反応系に加えます。アニーリング条件下では、TaqMan®プローブはテンプレートDNAに特異的にハイブリダイズしますが、蛍光はクエンチャーによって抑制されています。伸長反応時、Taq DNAポリメラーゼのもつ5'→3' exonuclease活性により、テンプレートにハイブリダイズしたTaqMan®プローブが分解され、クエンチャーによる抑制が解除されることで発する蛍光を検出する方法です。

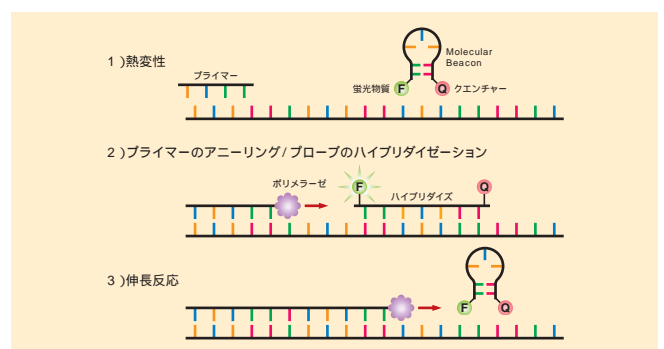


4 Molecular Beacon法

両末端をそれぞれ蛍光物質(FAM™など)とクエンチャー物質(DABCYLなど)で修飾した、ヘアピン型二次構造をとるオリゴヌクレオチドプローブ(Molecular Beaconプローブ)を反応系に加えます。

Molecular Beaconプローブは、アニーリング条件下では、テンプレートと相補的な領域で特異的にハイブリダイズします。このとき、蛍光物質とクエンチャー物質との距離が広がるためにクエンチャー物質による抑制が解除されることで発する蛍光を検出する方法です。

一方、ハイブリダイズしなかったMolecular Beaconプローブは、二次構造を保持しているため、クエンチャー物質による抑制で蛍光を発することはありません。



Smart Cycler® II System(基本システム)

製品コード SC200N 一式 ¥5,000,000

【本体】

- Smart Cycler® II Unit(16個のI-CORE™モジュール搭載)
- 制御用コンピュータ(Windows®XP対応、ノート型)

【標準付属品】

- Smart Cycler® Accessory Pack
SC用遠心機、チューブラック(SC反応チューブ用)、Smart Cycler®
冷却ブロック、Smart Cycler® Software Version 2.0、
ユーザーマニュアル、電源コード、USBケーブル
- 25 µl Smart Cycler®反応チューブ(50本)

Smart Cycler® II System(2 units model)

製品コード SC210N 一式 ¥7,500,000

【内訳】

- Smart Cycler® II System(基本システム)
- Smart Cycler® II Unit(システム増設用、1台)

仕様(Smart Cycler® II Unit)

寸法	: 305(W)×305(D)×250(H)mm
重量	: 10 kg
電源	: 100~240 V AC, 50~60 Hz, 350 W
温度制御能力	: 加熱時(最大): 10 /秒(50~95) 冷却時(最大): 2.5 /秒(95~50)
温度制御精度	: ±0.5 (60~95)
サンプル数	: 16サンプル/Unit 最大96サンプル/6 Units*(基本システムでは最大48サンプル/3 Units)

*別途お問い合わせください。



【Smart Cycler® II System関連製品】

Smart Cycler® II Unit(システム増設用)	製品コード SC201	一式	¥3,500,000
Smart Cycler® Software 2.0 Upgrade Kit*	製品コード SC220	一式	¥80,000
Smart Cycler® II Upgrade Kit**	製品コード SC230	一式	¥1,500,000
Smart Cycler®用遠心機	製品コード SC900	1台	¥72,000
チューブラック(Smart Cycler®反応チューブ用)	製品コード SC901	4個	¥8,000
Smart Cycler®冷却ブロック	製品コード SC902	1個	¥24,000
25 µl Smart Cycler®反応チューブ(100本)	製品コード SC910A	100本	¥10,000
25 µl Smart Cycler®反応チューブ(1000本)	製品コード SC910C	1000本	¥90,000
100 µl Smart Cycler®反応チューブ(100本)	製品コード SC911A	100本	¥10,000
100 µl Smart Cycler®反応チューブ(1000本)	製品コード SC911C	1000本	¥90,000

* Smart Cycler® Software Version 2.0、Smart Cycler II Upgradeユーザーマニュアルが含まれています。

** 16 Smart Cycler® II I-CORE Modules、Smart Cycler® Software Version 2.0、Smart Cycler® II Upgradeユーザーマニュアルが含まれています。

We are actually required to include the authorization notice in its entirety which is: "Practice of the patented polymerase chain reaction (PCR) process requires a license. The Smart Cycler System is an Authorized Thermal Cycler and may be used with PCR licenses available from Applied Biosystems. Its use with Authorized Reagents also provides a limited PCR license in accordance with the label rights accompanying such reagents. Purchase of this instrument does not convey any right to practice the 5' nuclease assay or any of the other real-time methods covered by patents owned by Roche or Applied Biosystems."

- 本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないでください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- 本パンフレットの内容の一部または全部を無断で転載あるいは複製することはご遠慮ください。
- 本パンフレット記載の価格は2009年6月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。
- 本パンフレットに記載の内容(規格、仕様等)は、予告なしに変更することがありますので、あらかじめご了承ください。

製造元



輸入・販売元

タカラバイオ株式会社

東日本販売課 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
西日本販売課 TEL 077-543-7297 FAX 077-543-7293

TaKaRa テクニカルサポートライン

製品の技術的なご質問に専門の係がお応えします。
TEL 077-543-6116 FAX 077-543-1977

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

取扱店