



## StepOnePlus / StepOne リアルタイムPCR システム

素晴らしくシンプルなシステム、実に優れた結果

# 高性能のリアルタイムPCRにステップアップ



## 素晴らしくシンプルなシステム

Applied Biosystems™ StepOnePlus™ および StepOne™ システムは、きわめてシンプルで、使い勝手もよく、かつパワフルなインターフェイスを備えています。リアルタイムPCR初心者から経験者の方まで幅広くお使いいただけます。

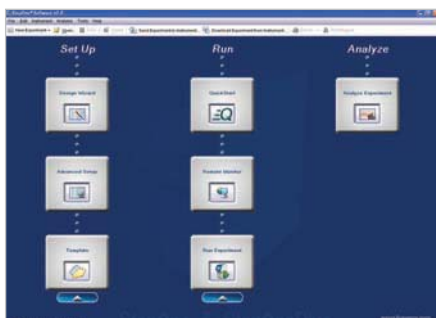


図 1. ソフトウェアのホーム画面

### システムの特徴

StepOnePlus™ および StepOne™ システムは、最新のリアルタイム PCR 技術とこれまでにない操作性を兼ね備えていますので、初心者の方でも安心してお使いいただけます。48 ウェル (StepOne システム) または 96 ウェル (StepOnePlus システム) を備えた各システムは、1 サイクルごとに増幅をリアルタイムで測定しますので、指数増幅期の PCR を正確に定量することが可能です。ホーム画面 (図 1) から、サンプルと反応のセットアップ、サーマルサイクリング、蛍光検出に至るまでのすべてのリアルタイム PCR 処理をスムーズに行うことができます。目的にあったアプリケーションソフトウェアで実験結果の解析や検討が行えます。実験デザインによっては、本システムのデザインウィザードからリアルタイム PCR 用試薬をオンライン注文することも可能です。本システムは、2 倍の特異性を 99.7% の信頼度で識別、かつ 10 log のダイナミックレンジを示します。また、本システムは感度に優れており、20 µL 反応ボリューム中の 10 コピーの RNase P を検出できます。さらに、StepOne システムをお使いの方で、スループットを増やしたい場合は、アップグレードキットもご用意しております。

### アップグレード

StepOne システムは、処理能力が足りなくなった場合、96 ウェルにアップグレードすることができます。お使いの StepOne システムをお送りいただきますと、代わりに StepOnePlus システムをお届けします。これによりアップグレード作業が完了するまでの間も実験を行っていただけます。

### 使いやすい実験デザインウィザード

本システムには、初めてリアルタイム PCR 実験の設定を行う初心者の方にも安心な実験デザインウィザードが備わっております。デザインウィザードをクリックして、実験に関する質問に答えるだけです。ウィザードを使って、定量法から、検出ケミストリ、ランプスピード、テンプレートとなる核酸タイプの設定を行います。デザインウィザードは、スタンダードからプレートレイアウトまで、すべてのプロセスをガイドするだけでなく、反応液およびスタンダードの希釈計算までサポートいたします。

### Features At A Glance

	StepOne システム	StepOnePlus システム
スループット/ウェル	48	96
FAM/SYBR Green dyes	✓	✓
VIC/JOE dyes	✓	✓
ROX dyes	✓	✓
NED/TAMRA dyes		✓
VeriFlex Block		✓

### 本システムの主な特徴

StepOne および StepOnePlus システムは、初心者から経験者の方まで幅広く対応する機能が備わっています。

- ・コスト効率のよい 3 色 / 48 ウェル (StepOne) または、4 色 / 96 ウェル (StepOnePlus) フォーマットで、精度の高い定量リアルタイム PCR を実現しました。
- ・長寿命 LED を採用した光学検出システムは、FAM™ / SYBR™ Green、VIC™ / JOE™ そして ROX™ などの蛍光色素が検出できて、遺伝子発現解析、病原遺伝子の定量、SNP ジェノタイピング、プラス / マイナスアッセイなどの実験が行えます (注: StepOnePlus システムでは、蛍光色素 TAMRA™ も検出します)。
- ・スタンダードモードまたは、40 分以内で完了する Fast モードで PCR 反応が行えます。
- ・非常にコンパクトな床面積で、どんな実験室にもフィットします。
- ・LCD タッチスクリーンと USB ドライブにより、設置方式がフレキシブルに選択できるだけでなく、コンピュータ無しでも操作が可能です。
- ・遠隔モニタリングと E メール通知で時間を有効に使えます。
- ・StepOnePlus システムのサーマルサイクリングは、VeriFlex™ テクノロジーが採用されています。PCR の機能性と温度調整の精度を向上させる、6 つに独立分割して制御が行えるペルチェブロックを搭載しています。
- ・必要に応じて StepOne システムを StepOnePlus システムにアップグレードすることも可能です。



# 卓越したインターフェイス

## 柔軟性

StepOnePlusおよび StepOneシステムは、フレキシブルな機器制御機能とデータ管理機能を備えており、どのようなワークフローにも対応します。コンピュータを接続しなくても、タッチスクリーンのコントロールパネルから、クイックスタートでランを開始させることができます。ユーザーは新しいプロトコルの作成、前回のラン履歴の閲覧、またはプロトコルの詳細を確認することもできます。ラン終了時には、実験データを簡単に USB メモリースティックへダウンロード、またはコンピュータに保存することができます。本システムは LAN (Local Area Network) へ直接つなげることができて、実験の進行状況のモニタリング、システムへの新しい指示の送信、データのダウンロード、システムプロファイルの編集が可能です。本システム付属ソフトウェアには、便利な E メール機能が付いていますので、ランが終了して解析準備が整ったことを E メールで通知してくれます。StepOnePlusおよび StepOneシステムのインストールには、5 つの設置方式

が選べますので、かつてない柔軟性と利便性に富んでいます。本システムの特徴であるスタンドアローン(コンピュータ無し)の設置方式では、設置床面積が非常にコンパクトになりますので、どんな実験室にもフィットします。直接 LAN に接続して、実験進行状況の遠隔モニタリングが可能で、完了した実験ファイルをデスクのコンピュータにダウンロードすることもできます。

## システム設置方式 (図 4)

1. 並置パターン
2. スタンドアローンパターン(本体タッチパネルでコントロール)
3. ネットワーク接続パターン
4. コンピュータを LAN に接続した並置パターン
5. 装置をネットワークに接続したコンピュータ並置パターン

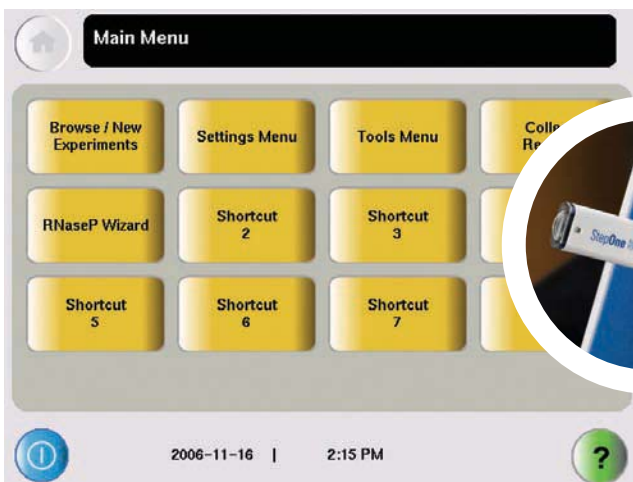


図 2. タッチスクリーンで実験画面を閲覧

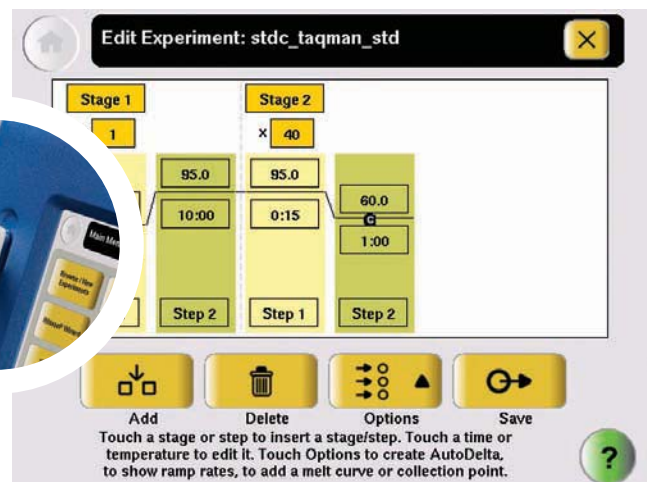


図 3. タッチスクリーンでモニタースクリーンを動作

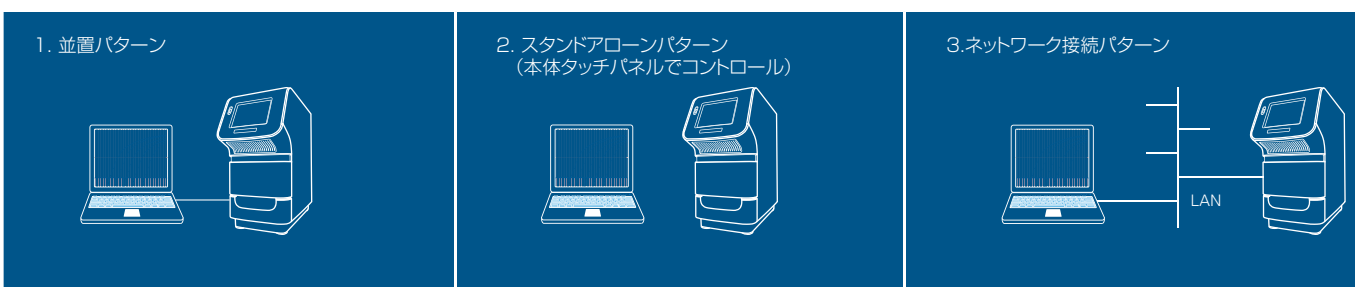


図 4. StepOne システムのインストールには、5 つの設置方式が選べます

## ソフトウェア

StepOnePlusおよび StepOneシステムのソフトウェアには、他のリアルタイム PCR 機器にはない独自の特徴があります。例えば、マルチプルプロット画面 (図 5) ではデータを多角的に解析することができます。付属ソフトウェアによって作成される、増幅プロット、スタンダード曲線、マルチコンポーネントデータプロット、生データなど 4 つのプロットを並べて評価することができます。このデータをプレートレイアウトに並べて表示することもできますので、解析が容易になります。もう一つの新機能は、付属ソフトウェアが実験の成功を妨げる可能性のあるウェルを自動的に検出します。データ解析では、ソフトウェアがクオリティ管理レポート表を作成して、ネガティブコントロールウェルの増幅、ウェルのシグナル欠如、または反復グループ内での  $C_T$  標準偏差の大きさなどの基準によりフラグがつけられます。この機能のおかげで、解析にかかる時間が短縮されるだけでなく、リアルタイム PCR 初心者の方でも結果が得られます。さらに、必要に応じてクオリティフラグ設定の解除や編集などのカスタマイズが可能です。

## ソフトウェアの特徴

- ・ 実験の設計と設定を助ける実験デザインウィザード
- ・ 実験を素早く開始できる試薬調製のレシピ
- ・ マルチプレックスなどの複雑な用途向けに柔軟性を求める熟練ユーザーのためのより高度な設定
- ・ すぐに作業を開始しプレート情報は後で入力できるクイックスタートセットアップ
- ・ 作業の進行状況が確認できる増幅曲線のリアルタイムモニタリング (離れた場所のコンピュータからモニタリングが可能)
- ・ データ解析を簡単にするオートベースラインおよび自動閾値機能
- ・ 1 度に 4 つのプロットを並べて評価できる Multiple Plots 画面
- ・ 直感的なグラフィック出力と読み取り精度指定が可能な SNP ジェノタイプオートコール機能
- ・ 実験で問題が発生した場合に診断と解決を助けるトラブルシューティングフラグ

- ・ 増幅曲線や SNP ジェノタイププロットのビュー時にサンプルウェルが容易に同定できるツールチップ
- ・ E メールで作業の開始と終了を通知
- ・ 使いやすいカット & ペースト機能
- ・ データを PowerPoint™、Excel™、または jpeg ファイルとしての直接出力も可能

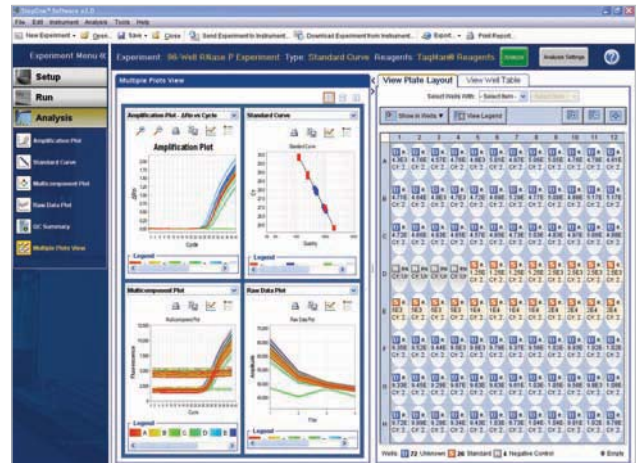


図 5. StepOne システム Multiple Plots 画面

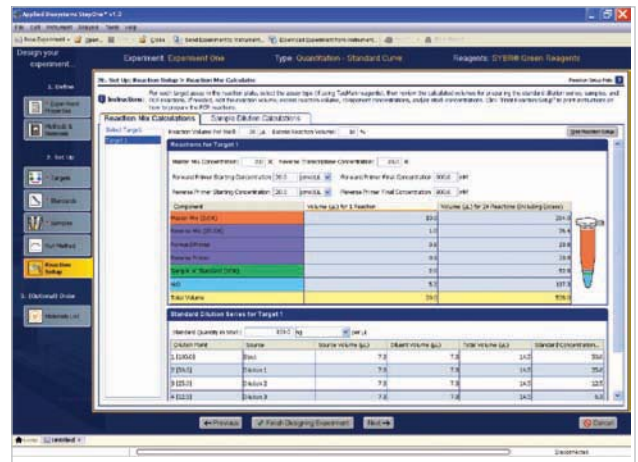


図 6. StepOne システム 反応セットアップ画面

スタンダードと PCR 反応を設定するために、StepOne システムのソフトウェアを使って、反応プレート中の各ターゲットに対して計算ボリュームの再検討および編集を行うことができます。

## 4. コンピュータを LAN に接続した並置パターン USB-10/100 アダプタ



## 5. 装置をネットワークに接続したコンピュータ並置パターン



# 卓越した実験結果

## ケミストリ

StepOnePlusおよびStepOneシステムの蛍光検出ケミストリには、FAMおよびVIC標識Applied Biosystems™ TaqMan™ MGBプローブアッセイや、VIC標識およびTAMRA標識プローブによるアッセイ、またApplied Biosystems™ SYBR™ Green I 標識ケミストリが含まれます (StepOnePlusシステムでのみ、TAMRAが使用できます)。TaqMan MGBプローブを使ったアッセイには、非常に高い特異性と感度があります。本システムはSYBR Green I アッセイのケミストリにも対応していますので、ターゲット遺伝子の同定や1次スクリーニング、また反応数が少なくても済む実験を行う際にとっても経済的です。

## ソフトウェア解析

StepOnePlusおよびStepOneシステムのソフトウェアは、次のような様々な解析方法に対応しています。

- ・絶対定量
  - 検量線法
- ・相対定量
  - 相対検量線法
  - 比較  $C_T$  法 ( $\Delta\Delta C_T$ )
- ・内在性ポジティブコントロールを使用した、プラス/マイナスアッセイ

・融解曲線分析

・ジェノタイピング (リアルタイム増幅を含む)

## アプリケーション

StepOnePlusおよびStepOneシステムのソフトウェアは、様々なアプリケーションに対応しています。また、以下のようなアプリケーションに最適なアッセイが用意されています。

- ・SNP ジェノタイピング
- ・トランスロケーション解析
- ・遺伝子発現プロファイリング
- ・遺伝子検出
- ・microRNA 発現
- ・ウイルス定量解析

## スピード

StepOnePlusおよびStepOneシステムは、スタンダードおよびFastモードのサーマルサイクリングを同じブロックを使って、何の変更を加えることもなく行えます。スタンダードモードは2時間未満で完了します。Fastモードは、40分で完了しますので、リアルタイム定量PCRアプリケーションにかかるランタイムを大幅に短縮することが可能です。Fastサイクリングは、決められた時間内でラン回数を最大限に増やしたい場合に最適です。

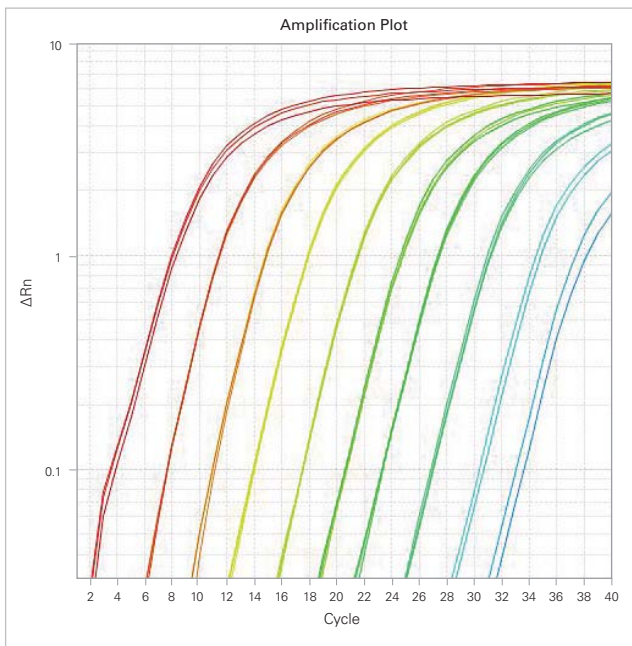


図7. 幅広いダイナミックレンジ

増幅曲線は、補正した蛍光の変化の対数値をPCRサイクル数と対比した曲線として示します。上図の曲線はStepOneシステムを使って得たもので、10倍希釈系列で行った18S rRNA遺伝子のTaqManアッセイにおいて10 logのリニアダイナミックレンジを示しています。

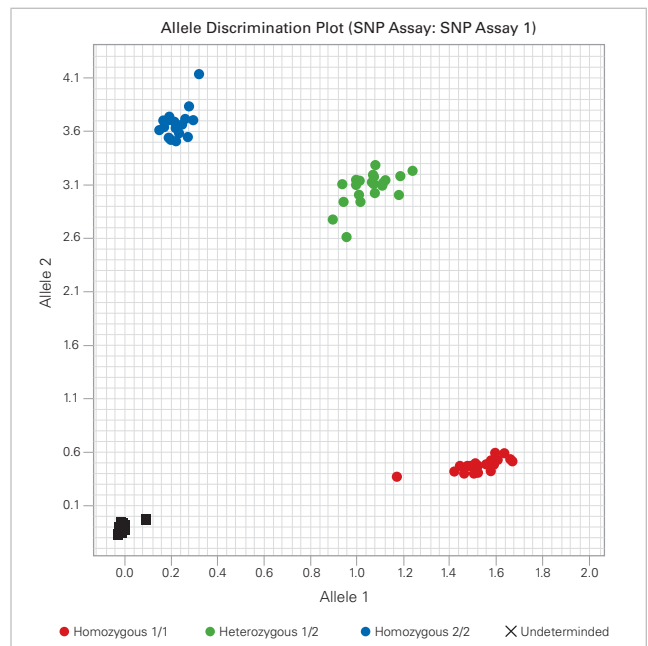


図8. ジェノタイピング解析

SNPオートコールソフトウェアがジェノタイプを自動的に判定し、クラスタープロットレポートとして直観的なグラフィック表示を作成します。このレポートは、複数の集団やサンプルにまたがるデータを閲覧するのに役立ちます。上図の結果はヒトCYP2C19\*2 TaqMan SNP Genotyping Assaysで得たものです (StepOnePlusシステムを使用)。

## VeriFlex ブロック

96 ウェル StepOnePlusシステムは、PCR の機能性と温度調整の精度を高める、6つの独立分割した制御が行えるペルチェブロックを搭載した VeriFlexブロックを採用しています。VeriFlexブロックの採用により、初心者の方でも PCR 最適化とアッセイワークフローを向上させることができます。

### より優れた PCR 最適化

VeriFlexブロックは PCR 反応の至適アニーリング温度を判定するために、一つの増幅サイクル上で異なる6つのアニーリング温度設定のランを行うことができます。VeriFlexブロックは最適化した温度特性を等温コンディションでも再現できますので、その他の最適化作業が必要ありません。このため PCR 最適化には VeriFlexブロックのほうが、グラジエントアプローチよりも優れています。



VeriFlex ブロック (96 ウェル)

### 実験結果

StepOnePlusおよび StepOneシステムは、製造段階で光学系とサーマルサイクラーの精度についてキャリブレーションされているので、システムが届いたその日から良好なリアルタイム PCR の結果が得られます。StepOnePlus および StepOneシステムは、5,000 および 10,000 コピーのテンプレート DNA を 99.7% の信頼度で検出できます。StepOnePlus および StepOneシステムは、増幅曲線 (図 7) を見ても分かるように、10 log のリニアダイナミックレンジを備えています。

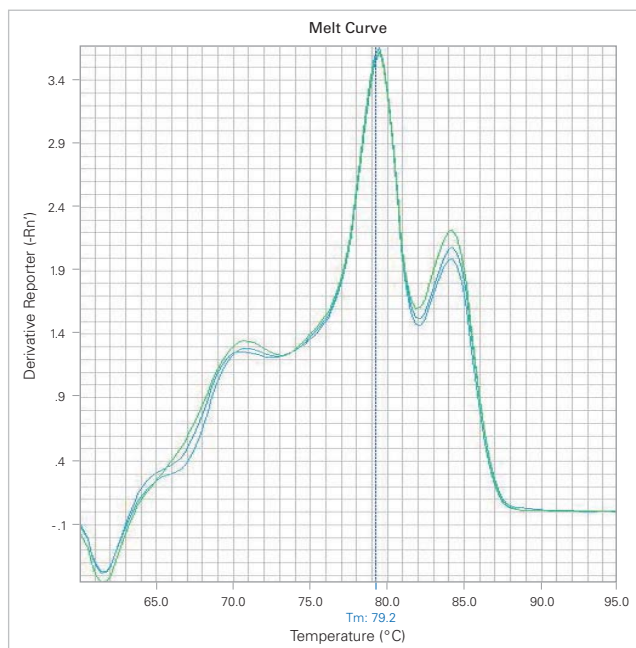


図 9. 融解曲線分析

通常の PCR で 18S、 $\beta$  アクチン、GAPDH を増幅させ、それらのアンプリコンを混合したものを融解曲線で解析しました。3つのアンプリコンが Tm 値の違いにより区別されています。

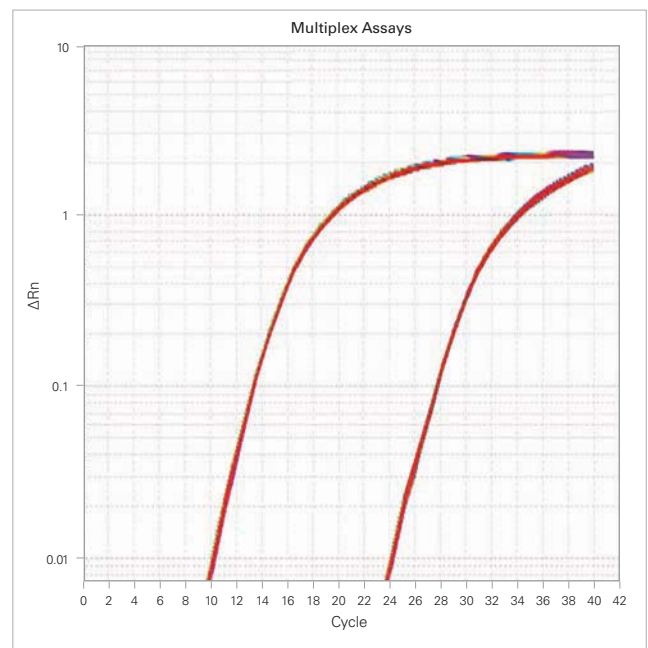


図 10. マルチプレックス・アッセイ

StepOnePlusシステムで行ったマルチプレックスの TaqMan アッセイ。18S rRNA 遺伝子に対して VIC ラベルプローブ、TGF- $\beta$  遺伝子に対して FAM ラベルプローブを使って得られた、cDNA の増幅 (48 サンプル) を示しています。

## 2つのシステムの特徴



### StepOneシステム

- ・低スループットの48ウェル
- ・ベーシックな実験に対応の3色素
- ・StepOnePlusシステムへ簡単アップグレード



### StepOnePlusシステム

- ・高スループットの96ウェル
- ・フレキシブルに使える4色素
- ・フレキシブルなサーマルサイクリングのためのVeriFlexブロック



# 卓越したソリューション

当社では、充実したラインアップのリアルタイム PCR 用試薬およびデザイン/解析ソフトウェアをご用意して、StepOnePlusおよび StepOne リアルタイム PCR システムの初心者から経験者まで幅広くサポートいたします。実験のセットアップ中に、デザインウィザードが自動で試薬・消耗品リストを作成しますので、そのリストを元に、リアルタイム PCR 用マスターミックス等の消耗品をご注文いただけます。

## サービスとサポート

StepOnePlusまたは StepOneリアルタイム PCR システムご購入の際、部品およびサービスに対する 1 年保証が付きます。修理センターでの引き取り修理とアップデートサービスは、StepOnePlus および StepOneどちらのシステムでも、当社を通してご利用可能です。テクニカルサポートおよびサービスは、世界中で受けることができます。さらに、StepOneシステムから StepOnePlusシステムへのアップグレードも承ります。

## TaqMan SNP Genotyping Assays

Applied Biosystems™ TaqMan™ SNP Genotyping Assays は、ヒトとマウスのゲノム全域にわたって 450 万を超えるデザイン済みアッセイを取り揃えております。このコレクションには、250 万の HapMap SNPs、70,000 の cSNPs、160,000 の検証済みアッセイ、そして 2,500 の Drug Metabolism Genotyping Assays が含まれます。さらに、弊社 Custom TaqMan SNP Genotyping Assays サービスをご利用になられますと、ターゲット SNP 配列を提出していただくだけでお客様独自のアッセイをどんなゲノムに対してでも設計・合成いたします。ご提出された情報の機密は保持されます。TaqMan SNP Genotyping Assays についての詳細は、[www.thermofisher.com/taqman](http://www.thermofisher.com/taqman) をご覧ください。

## Ambion と Applied Biosystems の RNA 分離キット

当社では、動植物、培養細胞、血液、バクテリア、酵母などの様々なサンプルに対応する、幅広い RNA 分離キットをご提供しています。血液、バクテリア、ホルマリン固定サンプルは専用のキットが適しています。一方、ほとんどの真核生物のサンプルは Invitrogen の RNA 分離キットを用いることにより優れた結果を得ることができます。

## TaqMan MicroRNA Assays

当社では、microRNA の定量に便利な、感度と特異性が高い TaqMan アッセイケミストリーを用いた Applied Biosystems™ TaqMan™ MicroRNA Assays をご提供しております。MicroRNA アッセイは、Human (ヒト)、Mouse (マウス)、Rat (ラット)、Arabidopsis (シロイヌナズナ)、Drosophila (ショウジョウバエ)、C. elegans (カンセンチュウ) に対応しております。詳しくは [www.thermofisher.com/taqman](http://www.thermofisher.com/taqman) をご覧ください。

## Primer Express ソフトウェア

Applied Biosystems™ Primer Express™ ソフトウェア v3.0 は、TaqMan プローブ使用のリアルタイム PCR またはエンドポイント解析に用いるプライマーの設計が簡単に行えます。本ソフトウェアは SYBR Green I ケミストリーを使用するプライマー設計にも最適です。Primer Express ソフトウェアは、StepOnePlusおよび StepOneシステムの付属ソフトウェアです。

# TaqMan Gene Expression Assays

当社は、700,000 種以上の最も網羅的なデザイン済みのリアルタイム PCR アッセイを集めた Applied Biosystems™ TaqMan™ Gene Expression Assays をご提供しています。すべての TaqMan Assays はバイオインフォマティクスに基づく検証済みパイプラインを経て設計されており、同じ PCR 条件下で使用できますので、プライマー設計や PCR 条件の最適化が必要ありません。これに加えて Custom TaqMan Gene Expression Assays と プローブもご利用できます。TaqMan Gene Expression Assays についての詳細は、[www.thermofisher.com/taqman](http://www.thermofisher.com/taqman) をご覧ください。

TaqMan Gene Expression, SNP Genotyping, and MicroRNA Assays

TaqMan Assays 選択ガイド	アプリケーション		
	Gene Expression*	SNP Genotyping†	MicroRNA‡
設計済み TaqMan アッセイ (Inventoried、および Made-to-Order)	Yes	Yes	Yes
Custom TaqMan Assays	Yes	Yes	No
ゲノムの種類	アッセイの数		
Human(ヒト)	> 2,024,000	> 4,000,000	> 300
Mouse(マウス)	> 179,000	> 10,000	> 240
Rat(ラット)	> 128,000	§	> 180
<i>Drosophila melanogaster</i> (ショウジョウバエ)	> 38,000	§	> 50
<i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナ)	> 95,000	§	> 40
<i>C. elegans</i> (カンセンチュウ)	> 90,000	§	> 60
Canine (イヌ)	> 6,000	§	N/A
Rhesus macaque (アカゲザル)	> 70	§	N/A

\* miRNAアッセイ、Gene copy numberアッセイ、Mitochondrialアッセイを含みます。

† HapMapアッセイ、drug metabolism genotypingアッセイを含みます。

‡ 遺伝子発現のみ。

§ あらゆるSNP、トランスクリプト、ゲノムに対してカスタムTaqMan アッセイをご利用いただけます。

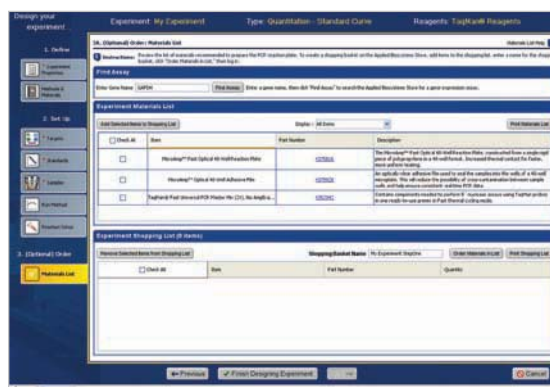


図 11. 実験デザインウィザードの試薬注文ページ画面  
(日本ではご利用いただけません)

# 試薬消耗品

TaqMan™ Fast Advanced Master Mix、TaqMan™ Universal PCR Master Mix、Power SYBR™ Green PCR Master Mix、および 96 ウェルプレートを含む消耗品など充実した製品ラインアップが StepOnePlus/StepOne リアルタイム PCR システムでご利用いただけます。これらの製品は簡単に、買い物リストに加えることができ、実験デザインウィザードの“Material List”リンクからご注文することができます（図 11 参照：日本ではご利用いただけません）。

## StepOnePlus/StepOne リアルタイム PCR システムの関連試薬消耗品

製品名	サイズ	製品番号
<b>シール&amp;カバー</b>		
MicroAmp 48-Well Optical Adhesive Film	25枚	4375928
MicroAmp 48-Well Optical Adhesive Film	100枚	4375323
MicroAmp 96-Well Optical Adhesive Film	25枚	4360954
MicroAmp 96-Well Optical Adhesive Film	100枚	4311971
<b>リアクションプレート</b>		
MicroAmp Fast Optical 48-Well Reaction Plate	20枚	4375816
MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode (0.1 mL)	20枚	4346906
MicroAmp Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode (0.1 mL)	200枚	4366932
<b>8ウェルストリップ</b>		
MicroAmp Fast 8-Tube Strip, 0.1 mL	125ストリップ	4358293
MicroAmp Optical 8-Cap Strip	300ストリップ	4323032
<b>アクセサリ</b>		
MicroAmp Fast 48-Well Tray	10枚	4375282
MicroAmp 96-Well Tray for Veriflex Blocks	10枚	4379983
MicroAmp 48-Well Base Adaptor	5枚	4375284
<b>試薬</b>		
Power SYBR Green PCR Master Mix	5mL	4367659
TaqMan Gene Expression Master Mix	5mL	4369016
TaqMan Genotyping Master Mix	10mL	4371355
TaqMan Fast Advanced Master Mix	5mL	4444557
TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix	200反応	4444432
SuperScript VILO cDNA Synthesis Kit	50反応	11754050

## Ordering information

製品名	製品番号
StepOne リアルタイム PCR システム	StepOne-01
StepOnePlus リアルタイム PCR システム	StepOnePlus-01

リアルタイム PCR の詳細はこちらをご覧ください。

[www.thermofisher.com/qpcr](http://www.thermofisher.com/qpcr)

研究用のみ使用できます。診断目的およびその手続上での使用はできません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 [www.thermofisher.com/TC](http://www.thermofisher.com/TC)

For Research Use only. Not for use in diagnostic procedures. © 2016 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems. Printed in Japan. SDS024-E1602OB

販売店

## サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

本社：〒108-0023 東京都港区芝浦 4-2-8

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com)

オーダーサポート TEL：03-6832-6980 FAX：03-6832-9584

営業部 TEL：03-6832-9300 FAX：03-6832-9580

[facebook.com/ThermoFisherJapan](https://www.facebook.com/ThermoFisherJapan)

[@ThermoFisherJP](https://twitter.com/ThermoFisherJP)

[www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC