

18kDa€• , f „ ... (CAMP) † ‡ ^ %Š

(< Ą• Ž Lumi nex• • , ' ' ")

" • _ _ ~ ™§

> • œ• ž

Ÿ | € £ ¤ > • ¥ | • § " ©ª « !

- - ®

[¯ ° ± •]

 2 ^ %Š³ • ´ f i ' ' " µ ¶ † µ™š. ı ı . ° 1 » ¼½° 1 ¾¿ À Á Â 1 ¾¿ Ã Ä Å , Æ Ç È É Ê — Æ

 i È CAMPİ ¶ Í

[^ %Šİ İ]

^ %ŠĐÑ	Ò¶	^ %ŠĐÑ	Ò¶
96ÓÔÕÖ×ØÙ	1	96ÓÔÚÛ	4
ÜÝÞ	2	ÜÝÞßàÀ	1á 20mL
< â	1	ã ä å æÀ	1á 20mL
† ‡ ç ÀÁ	1á 120èL	† ‡ ß à ÀÁ	1á 12mL
† ‡ ç ÂËÏPE-SAÛ	1á 120èL	† ‡ ß à ÂË	1á 12mL
éÀ	1á 10mL	ê ë ì Ñ Ò30á Û	1á 20mL
> • œ• ž	1		

[í î ï ð ñ ò ò ^ %Š]

 1¹ Lumi nex MAGPI Xó¥ Lumi nex 100ó¥ Lumi nex

200ó¥ Æ Bi o-Radó, Bi o-Pl exóã ä ö Õö ÷ ø > • ù ú ù ¯ ù , ù ý þ î † ÿ Ý Û

 2¹ • Æ • ¶ Åøð

 3¹ ß à Þ ð EP .

 4¹ Æ • ,

 5¹ <

 6¹ è À ð Ī ø

 7¹ 0.01mol /L Õ Æ 1á Û å æ (PBS) ¥ pH=7.0-7.2

 8¹ ø

 9¹ Ü Ö ø

[^ %ŠŠ ð ò °]

1¹ ð ^ %Š ~ ^ %! " ^ % # Ü \$ Å % & Í ' () ¥ * + ^ % Š , ' - . / Ü Ý Þ ¹ † ‡ Ç Å Å
1¹ † ‡ Ç Å B O ò % Ó Ô & § - 201 C ¥ Ç 2 ^ % ' 3 § 41 C & ì • Í
2¹ > • , ð ^ % Š ~ 4 2 ^ % 5 í " 6 ^ % # Ü \$ % ð 7 8 & Í
() ~
^ % Š Í Ü 9 : ; < ¥ " = > í ? : ã @ > • A > • , ð 4 2 ^ % Š ö ÷ B C @ = > , 1 D E Í > • F G Í H
P I ° J K O Š , Å ð Ü \$ L Ý ¥ & M ° Í » ã N O & P Q µ ð Í

[Ü² ð RST & _]

• , ~ / * S § • , ã • È ð U • Ü² B V 7 3 2™ J Æ 41 C I W ¥ X , 1,000 á g • ' 20 ã Y ¥ Z Å , [: ¥
/ Å , 3 § - 201 C Æ - 801 C & ¥ \] ^ _ ` a Í
• ° ~ • E D T A Æ b c d L f e % R S Ü² ¥ ü / Ü² B R S , ð 30 ã Y Í § 2 - 81 C 1,000 á g • ' 15 ã Y ¥ Z Å ,
[: † ‡ ¥ Æ / Å , 3 § - 201 C Æ - 801 C & ¥ \] ^ _ ` a Í
» ¼ ½ ° ~ | f g h ð » ¼ i ì ½ ° ð j " k | f
1 Ü Z " ¶ » ¼ l ¥ B ¯ m P B S Ö 0.01 mol / L ¥ pH = 7.0 - 7.2 Ü È , è n • Å ¥ ½ ° ù o Ñ p Í
2 Ü / » ¼ q r ™ l ¥ ! ½ ð s 3 B t Å ð u v w Å Å å æ Å (x y I S 007 ¥ ± z { | Ü } x ð ~ ¾ ç µ • €
• | f g h ð å æ Å) ð , f ! M ø È Ö • ™ ð » ¼ , ... † ‡ Ü Í Ö M ¶ | ^ % = 1 : 20 - 1 : 50 ¥ Š † ~ 1 mL Å Å å
æ Å È < s 20 - 50 mg » ¼ ² Í Ü
3 Ü / Æ + ð • Ž Å • l • ' ' " " • , Í
4 Ü / i ì p ð ½ ° Å 10,000 á g • ' 5 ã Y ¥ — — ~ ¥ Å , [: • § † ‡ Æ 3 § - 201 C ™ & Í
¾ ç Å Å Å ~ B ã ä ^ > š ü ¥ ¾ ç í > • O ™ j " ' " ~
1 Ü œ • ¾ ç ± ž • m P B S Ý Ý , è ¥ X , • } x | Ç ¥ § 1,000 á g • ' 5 ã Y , * S Í Ö • £ ¾ ç : ¨
l • ' ¥ | * S Ü Í
2 Ü / * S + ð ¾ ç • m P B S è 3 @ A
3 Ü / ¾ ç • v w Å Å å æ Å p • " § 8 L 107 D ¾ ç / " © ¥ † ª í ... ¥ ¾ ç : O « ¬ • ' - ' " " Ç Å • , Í
4 Ü / Ü² § 2 - 81 C 1,500 á g • ' 10 ã Y ¥ — — ~ ¥ Å , [: • § † ‡ Æ 3 § - 201 C ™ & Í
¾ ç Å Å Å , Æ Ç È — — Ü² ~ ' 1,000 á g • ' 20 ã Y ¥ Z Å , [: † ‡ ¥ Æ / Å , 3 § - 201 C Æ - 801 C & ¥
\] ^ _ ` a Í
() ~
1¹ O Å Ü² ! í § & ¥ 41 C & ™ § 1 @ ¥ - 201 C | • l 1 D E ¥ - 801 C | • l 2 D E Í
2¹ Ü² ° Ç • k ±²³ , † ‡ ª ¥ • † Ç • Ü² | µ « ¬ † ¶ † † Í
3¹ Ü² > • ù ± å • ! , " V 7 ¥ | ± < ù > š a Á Í
4¹ 1 § ° ¶ † ‡ ð { ¥ » ¼ ½ ¾ » • • , ç | P • ° d L ² « ¬ † † Í

[Lumi nex200 ã ä ö]

- 1. ã ä j ^ ~ 50 u L A
- 2. • Ž g h ~ < â M a g P l e x ;
- 3. Å < â ¶ ~ 50 Å / Å ;
- 4. M F I Å ~ M e d i a n .

[^ % Ÿ ì]

1¹ > • ù / ð ^ % Ÿ Ü² å • ! , " V 7 Ö 18 - 251 C ù ¥ † ª ž ^ % Š B - Ä J K Í | Å > • ¥ ' Ý Z ~ ²
@ ^ > í ð Ü 9 Ÿ ^ % ¥ ü / 4 2 ð Ü 9 ð ^ % " Æ µ 9 Ç & Í

2¹ ÜÝƆ(ÈƆ)~ É#ÜÝƆ< sÜÝƆƆàÃ0.5mL¥ÉƆ, V7É3° Ì 10ãY¥f J ÝÝÍ Í Õ\] Í ÆÜ¥Çê8L 50.0ng/mLÍ Ýí 7DBàÜÝƆðEP ¥ÉDEP È< s 300ÑLðÜÝƆƆàÃ¥† Ò %z @Ó%Ɔà r 50.0ng/mL, 12.5ng/mL, 3.12ng/mL, 0.78ng/mL, 0.2ng/mL, 0.05ng/mL, 0.01ng/mL¥ÜÝƆƆ àÃ(0ng/mL)¥; dLÖxÓÍ L&Õ=>´ª Ç¥É@=>´ª >•vðÜÝƆÇÃÍ

item	1	2	3	4	5	6	7	Tube
CAMP	50.0	12.5	3.12	0.78	0.2	0.05	0	ng/mL

3¹ † ‡ ÇÃÀ † ‡ ÇÃÀ~ Detection A òDetection BB>•ù´•ÕÖx™ÆØÛ•´´" ¥O> ÚÛB •Æ#ÈðÃ; —^+ ÜÍ´´•ùãÝO† ‡ƆàÃÆB 1:100Ɔà(†~ 10ÑL† ‡ÇÃÀ/990ÑL† ‡ƆàÃÀ)¥ƆàƆ½¥Ɔàùà{´oáâƆðÉ@=>´ª í ðÀ¶ãí (100ÑL/Ó)¥=ããí J ±ãí 0.1-0.2mLÍ

4¹ èèì Ã~ 580mL Æ•, < s 20mLèì ÃÕ30á ÛƆà" 600mL" á dÃè8Í
()~

1¹ ÜÝƆðƆà; Å¥; BÕÈ«-Í

2¹ ÜÝƆ' §´´•ù15ãYÍãí Í žÜÝƆæÃ>•-@Í

3¹ ÜÝƆ¹ † ‡ ÇÃÀã dÃ¹ † ‡ ÇÃÀƆ dÃ¹ >•É±ðƆàÃãí ¥ƆàÃ; ÅƆ•Í•ÃÇÝÝèé ƆàƆ½¥\] Í ÆÍ L&Õ=>´ª ðÝOÈ' >••¶ ¥ü Ý•¶ ÃðÍ' z{ í ð¶èOã í ¥-¶; ...>••¶ãí ðj " Õ† Z† ‡ÇÃÀJ ¥-@; ...™§10ÑLÛ¥O\] èr è8ì í Í

4¹ ' î Ɔ_>•í•Ɔàì ðÜÝƆ¹ † ‡ ÇÃÀã dÃý† ‡ ÇÃÀƆ dÃÍ

5¹ èì ÃÕ30xÛÈ†´ðã´¥' o7ñ" V7¥ÝÝƆ½¥" +´ðFUÇÁð«-ãí Í

6¹ ^%ŠÈöã^%L Ã¥óóíã3rã dÃ, >•¥Ɔà3ì öÈ: Å•L÷ø M¶íÆ Mùú¥ Oð=>È•ùúýø8Í ¥èr=>´ª; ÝO¥Ɔ" FUÿì Í' >•´ã3Í

[Ü²´"]

1¹ ² æ ^%Š² ¥; •>•ž ^%Š èr ð ²; ù ¥' >• >•ùƆã + ²ð : Å>•¶¥- Ɔ ð ²Í

2¹ =>ù±o~ ‡ ²È ‡-è8Í è8; BÜÝ ð Í J¥•ö OµÇ µ=>ð³ ƆƆ àÓÓÍ†ª ƆÈ ‡-è8ì ÆÍ ¥' ²ý" ðƆàÆè Í ²Ɔàí•ƆBSÍ

3¹ † ²; Ì Bœ•ž ²šÈ¥ö÷«- =>>ÔÇ Ç¥ü() ²Í

4¹ >•Ç ÃÃÃí ï ð»¼½°Æ¾¿úZÃ: Åk § Ç -Mð s! " =>´ª #í Í

5¹ ²L¾¿ÃÃÃ, ¥•Lžg ²È\$•c% ¥†~¾¿&' 1¾¿ Õ¶¹R JK(¥ O: Å B † ‡; ð) *Í

6¹ +X} xÆƆ»} x¥, - . ò/. Ɔ»} x¥: Å•LT²HP >•ð† ‡Ɔ; òO1Ɔ; Ì 2ã ¥¿; Ø† ‡-Í

7¹ ö÷>•vw ²¥& JKI 3: Åk•} x4ÁÆ5Ç! " =>´ª #í Í

[6d78]

1¹ / => ÕðÉÓÍ < s 200ulãäãæÃ•O⁻ 9¥ : , B ÜÛ ðÃV7; 10ãY¥š, ÕÈÓÍ Ã; ¥[: •§< 6dÍ

2¹ < ~ãÝñÜÝÓ¹ ‡ ƆÓ¹ ÕxÓÍ ñÜÝÓ¹Ó¥z @< s 100ÑL; Ɔè8ðÜÝƆÛ< ^%Ýí 2 ÜÍ ÕxÓ< 100ÑLÛÜÝƆƆàÃÕ< ^%Ýí - = 7³, - Û¥2Ó< ‡ ƆÕÆƆà, ð ƆÛ100Ñ L¥ÉÓ< 10ul<ã¥ ÜÛ< ÅÛÛ¥371Ç ÜÛ ð7ñ1™J ¥ Í >?ñ3L 800rpm¥ @2-4mm¥ AB<ã-4Í

- 3¹ Å< ¥2āY, - Ā_j ¥< &Cð&'™ÖÈ¥| • èì Í
- 4¹ ÉÓ< †‡çĀĀâdĀ100ÑLȪ • ùāi Û¥ ÜÔÛÛ¥371C ÜÔ ø7ñ1™J¥ Í >?ñ3
L800rpm¥ @2-4mm¥AB< â-4Í
- 5¹ Å< ¥2āY, - Ā_j ¥ÉÓ•200ÑLðèi Āèi ¥DĐ1-2āY¥- ÓÍ Ā_j Í p_èÔ3@
Í³, - @èi, ¥ ZÆE- 42ðèi àæĀ¥/ ÜÔEFB GĀ¥/H BÓÍ ðĀ_j Uó È
Í †l ö„ : î Í < èÔl JFrÍ
- 6¹ n< ¥ÉÓ< †‡çĀĀâdĀȪ • ùāi Û100ÑL¥ ÜÔÛÛ¥371C ÜÔ ø730āY¥ Í
>?ñ3L800rpm¥ @2-4mm¥AB< â-4Í
- 7¹ Å< ¥2āY, - Ā_j ¥ÉÓ•200ÑLðèi Āèi ¥DĐ1-2āY¥- ÓÍ Ā_j Í èÔ3@¥j
" f785Í
- 8¹ n< ¥ÉÓ< éĀ150ÑL¥ ; 2āY¥> • ŽK• £&' ¥[: Āl LÒÍ
() ~
- 1¹ ^%Ÿi ~ Ÿi - @=> í ...ð Ü9¥ÇÈð: M• ÓÔĀ;™¥\$ ¥" 6œ• ž...? & ¥Oì™@
> • Í
- 2¹ < ~ =>6dĒ' > • - @EðN„ ¥\] ùúÍ < J() | ... ODH-¥/ P< \$ ÜÔÛó
¥- ¶| PðÓ• ¥ŸŸQÍ B½Í T^±^%< s- ¥< l öĒ-- DÓT³, - DÓ< JKKR-
¶™Ö- STi B10āYOÍ Û¥†ª Uº ¥/k! " | fðV- 7ñWJ K¥M¿• XY±² + †¶ĀðŸ
OÈðp_ĒÍ LZ †ĀðŸOÈ¥½¾ñ3_Ó« - =>Í
- 3¹ 7ñ~ LAB P [¥=>J' / < ĀĒÆÚÛð ÜÔ3\$9ŠÍ ¥O\] Ā_j [¥èÔ, ±- . « -
™76d¥\] J^N±\] ÜÔ' \$Ē_&' ¥fJ±` abcdµð7ñJKý78Í
- 4¹ èi ~ Pāèi efp...¥BÉ@èi l öĒ¥N.../èi ĀFUÖĒÍ †ª > • î Í èÔl ¥' Bgh> •
, ò• \$i j =>l öĒÍ
- 5¹ †ª =>VÍ 98 \$60%¥½¾> • < 9øú 98 kÍ

[=> - "]

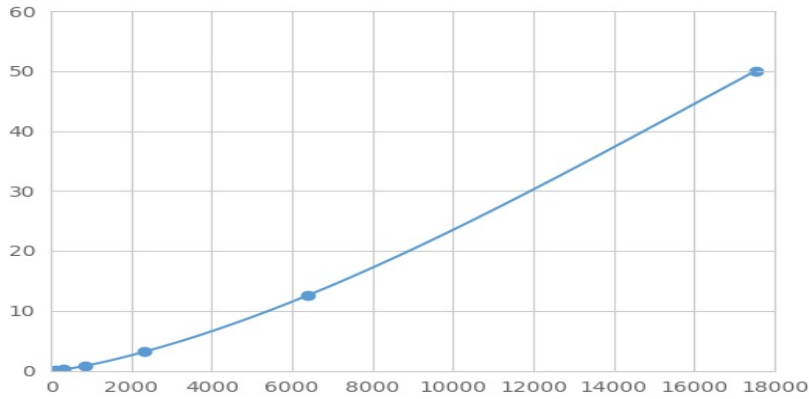
/CAMPf_j Ø\$< Ē• Žl m¥i r nÉo_j ¥p• ŽĒāŸ< sÜŸPÆÜ² ¥ÇÈCAMPTq_j \$nÉo_j
Āðf_j ´ r ¥X, < s--c ÇðCAMPf_j ¥B/ ´ r ð--c Çf_j èø, ¥< sPEÛsðt ýc ¥PEØ
u [, ¥à { MFIĀÖMedian Fluorescence IntensityÜðº™Ÿ PĒðCAMPê8Ki ÉĒÍ • Lumi nexā ä ò
‡µ¥áâ Pê8Í

[áâ]

vÜŸPò ² MFIĀFnÖxÓMFIĀ, dÒŌwxÒÜ¥†ñ3_Ó¥y±ZÇk! ĀááÍ OÜŸPðê8
Lz { ÜŌÆ Ò { ÜÜ¥MFIĀL | { ÜŌÆ Ò { ÜÜ¥ } - ÜŸ Ō³ j öj ±z ~• j öáâðR2Ā
Jµ¥OR2Ā€• , \$1LpŪÍ ½¾> • f„ i d ...Ç« -āā¥†curve expert 1.30¥à { P MFIĀ¥
ÜŸ †- É±ðê8¥†OBàÓÒAÆ• ÜŸ-ðê8TMFIĀáâ- ÜŸ ð~• j öj ¥/ Pð
MFIĀ^ sj öj ¥áâ- Pê8¥ð‡OBàÓÒ¥ [L Pð=äê8Í

[%hÖ{]

LZŠ\$áâ¥- ê8Lî 5¶¿ MFIĀL • 5¶¥» ¼} ÒJ 5R• ÜŸPðMFIĀdL | { ÜŌX< Ü¥ÜŸ
Pðê8Lz { ÜŌŸ< ŪÍ fJLZ^ > ´ª ð¥ĒĒ¥ŌĒú ðP- • Ò { ¿ e ŌĀÍ ½¾> • ŌĀö
ŽÜŸ ŌÍ \$=>6d9Çð| fŌ†6d 1 Ā• • 1 èÔ• • ý789Ç(Ü¥ÜŸ ðMFIĀk
í' í ú ðÜŸ Ÿ' ¥=> í ...à { î ï ð=>öŽÜŸ Í



(18kDa€•, f„ ...)† ‡ ^ %Š ÜÝ

[† ‡]

0.05-50ng/mL.

[³ ‡]

‡ ÆL20DÖx ÞÖ [ÜÝ Þßà ÆÛ ‡ μ ð k! Æ< = ÓÜÝí ‡ ð ê 8Í

[' Æ]

² ^ %Š• § ‡ ‡ CAMP¥• ‡ ‡ TÇÈÉ" —M•• X— — ^ ± Í

§ ~ +•• ð ² J™ ð" i ¥ | : ÅFr É Ê Æ É" —M— — ^ ± ‡ ‡ ¥• ‡ ² ^ %Š : ÅT • ‡ ‡ ð Ç È —M — — ^ ± Í

[ê § 8]

ê § 8• Þ ‡ μ Æ ð 5' š Ò CVI %Í CVÖ%Ü = SD/meaná 100

> Í í ~ Zf> @ ^ %Š ¹ È¹ Æ μ Æ ² « ¬ μ ¶ ‡ ‡ ¥ É œ ² q• ‡ μ 20

@ ¥ ã Ý á â | f ê 8 ² ð k! Æ ð SD Æ Í

> Kí ~ € Z 3 D | f > @ ð ^ %Š ã Ý ¹ È¹ Æ μ Æ ² « ¬ μ ¶ ‡ μ ¥ É D ² > • f - ^ %Š p _ ‡ μ 8 @ ¥ ã Ý á â | f ê 8 ² ð k! Æ ð SD Æ Í

> Í í ~ CV < 10%

> Kí ~ CV < 12%

[Q μ Æ]

• ‡ μ ¥ ^ %Š B ° Í ž " ½¾ 7 8 & ¥ Ý Æ 4 ? / ™ § 5% Í

L ™ Ç ó • c ^ %Š j Ç ù, ‡ ‡ Æ ð ± ² ¥ = > V ð É æ 9 Ç Í - ¶ & C - " ¥ ¥ Ç P = > V Í 7 8 ¹ 9 8 ð 7 ñ 9 Ç Í Ç @ f - = > | J « ¬ 6 d : § " L ì í í

[=> © ö]

1¹ => ù Ü Ý Þ ¹ ^ %ð ² Ý í A

2¹ < Ö Ü Ý Þ Æ ² Û 100 Ñ L ¥ < < â ¥ 371 C Ü Ö øª ñ 1™ J A

3¹ < Ö È ¥ < ‡ ‡ Ç Æ A 100 Ñ L ¥ 371 C Ü Ö øª ñ 1™ J A

4¹ < ëÔ3@A
 5¹ < †‡çÃB100ÑL¥371C Îª ñ30ãYA
 6¹ < ëÔ3@A
 7¹ < éÃ150ÑL¥ ; 2ãY, LÒÍ

[œ•]

1¹ §° 9Çò« •• k-| Å x-ú ð - ®« -Umð̄ µTãä¥²HP: Å B-
 µðM¶••° ±Í
 2¹ ³² ð=>´ªT^%ð Æ¹ => ðÉÊ6dOð=>£¤§qÉÊ¥' ž Ýi Þ ðÜ²i œÍ
 3¹ | f> @ðf - HP: Åk §³ í Ý¥†~†‡"¹´µ8¥' z{ ^%ŠÍ œ• ž « -=>6d¥¶. ,
 , @œ• ž Ýd' Í
 4¹ ² ^ %Šã¹ ^ % ã¹ > • ¥| ÅB• Ç° i è - ðHPÍ æ ` abc² ^ %Šð=>œ• » kÆ+³
 ð†‡´ªÍ
 5¹ B ò7ñi öË\] / ^ %¼½B¾¿ ĒÍ ^ %#Ê ÊÀOAB [ý• -—ùú¥• L} x Á
 ðÈ\$/! " ‡Ã| ÝOÍ
 6¹ Á Ãð ÃŒŒŒË: Åk §³ -M¥‡Li f° Ä¥| k =>´ªër\] ±²Í ÜÖB>•
 JM uÅÆZ⁻ ¥' î úùZ⁻ Í
 7¹ §6d | gh¹ 6dÇì Æÿì €• LÒðöÈ(N : Å! " ýi ´ª ðH-Í =>ù' É¾ÊLœ•
 ž üË^ ðøÍ
 8¹ B ²i i Oð6dðÉDI öËð5çN: Å! " | fð=>´ª¥ OLZú =>´ªð: p_Æ¥=
 >ðÉ-76dNí...` aTi Í
 9¹ ^ %ŠB⁻ ì ù! • l ` aM†¥Í §³ Î 9Çòv=>V9Çí ' ¥: Åkër =>´ªT⁻ ì ´ª | -
 " Æ| f> @^ %Š> Kí Ĩ ° ð) * Í
 10¹ ² ^ %Š TÇ° ì ðf g^ %ŠÆ| f j " †‡f - | ð—ðHPý %¥ O| Ñnt†´ª | - " ð
) * Í
 11¹ • §i ĩ ^ %ŠËf; ð] Ò- ¤f Lp»} x ¥Í §i p»} x €ZðÓÄ¹ | ŌšŌ¹ ÷ çj j (v
 | f ¥ O» ¼• " &Ōž ^ %Š: • §Ç° p»} x ð†‡¥¤f » ¼„ | ö ÷ • ^ %Š†‡p
 »} x Í
 12¹ ' - Ö PË †—ðè8¥Æ ñá⁻ =>Oµ Þ†‡è8Í x ð' " : OAB ²Ë †—Í ¶•
 - ^ %Š†‡ Í
 13¹ ž ^ %Š: Å| " • §- =>² Æ| Oµð Ø=> Þð†‡¥Š†¥¹ • Ûn=>(Í
 14¹ ² 6dœ• f " • §48T^ %ŠÍ
 15¹ ž ^ %ŠÝ £¤ > • ¥† / Ç• §" ©ª « Æ\] Ç° • Ú¥» / | • ‡H-ðÜÜ ¥Ý| Þ
 B\] " à \Í

[ŪÜÁá]

ŪÜ	: Å- •	Áaj ā
ÜÝ í	ÜÝÞÝi i O	« -i OðÜÝÞä8Bà
	Zòèi Þā	Þāð Zòèi
	Ā èO	††ý i Āø

ê§8	< â è ì Pã	" œ• ž ...? Pã; è ì ý DĐ
	β½ Pãý Z ^ %	Pãβ½ý Z ^ %
	p_> • 1 ĩ ø ý Ú Û	> • < ø...åævð 1 > • vđĩ ø ý Ú Û
	< ê O	†† ý i Åø
MFIÃ	É Ó < ð ^ % ¶ ê O	i Åø ¥ ê O < s ^ %
	7 ñ J K i O	& Ô Þ ð 7 ñ J K
	7 ñ 7 8 i O	^ %...k „ V 7 ü & Ô Ý O ð 7 ñ 7 8
	PEÛs — Ç	å æ ^ %
	PEÛs — B à Ó Ò	" 6 œ• ž = > 6 d
	• ^ L Ò J K L Ò	B œ• ž ½¾ ð L Ò J K Î L Ò
² Ã	i O ð ² j j	i O ² ¥ > • v w ² « ¬ =>
	i O ð ² * S ý ' " j "	R Z i O ð ² * S ý ' " j "
	‡ — M B ² È Ì ¶	> • v w ² ¥ p _ =>