

27kDa€• , f „ (Hsp27)... † ‡ ^ %

(Š< Æ• Lumi nexŽ• • ' ' ")

" • _ _ ~ TM

š • > œ•

ž Ÿ | € £ š • ¤ ¥ • | § " ©ª !

« ¬ -

[® ¯ ° •]

± ‡ ^ %² • ³ ´ µ ¶ · ¸ ¹ º » ¼½º 1 ¾¿ ÄÅÂ 1 ¾¿ ÃÄÅ , ÆÇÈÉÊ — Æ
 È Hsp27Ī ĴĶ

[‡ ^ %î ĵ]

‡ ^ ÆÑ	ÒĴ	‡ ^ ÆÑ	ÒĴ
96ÓÔÕÖ „ ×Ø	1	96ÓÔÙÚ	4
ÛÜÝ	2	ÛÜÝ ÞßÀ	1à 20mL
Š á	1	â ã ä å Æ	1à 20mL
... † æÅA	1à 120çL	... † ÞßÅA	1à 12mL
... † æÅBÕPE-SAØ	1à 120çL	... † ÞßÅB	1à 12mL
è Æ	1à 10mL	é ê ë ÆÕ30à Ø	1à 20mL
š • > œ•	1		

[ĺ í î ï ð ħ ñ ‡ ^]

- 1¹ Lumi nex MAGPI Xò ¤ Lumi nex 100ó ¤ Lumi nex
- 200ó ¤ ÆBi o-Radò, Bi o-Pl exò ã ö Ö ö ö ÷ š • ø ù ø @€ , ú û ü í ... ý þ Ü Ø
- 2¹ Ž Ÿ Æ Ÿ Æ Ĵ Æ Æ ÷ ñ
- 3¹ Þß Ý ĵ EP .
- 4¹ Æ •
- 5¹ Š
- 6¹ é Æ ĵ ĵ ÷
- 7¹ 0.01mol /L Æ Æ 1à Ø ä å (PBS) ¤ pH=7.0-7.2
- 8¹ ÷
- 9¹ Û Ö ÷

[‡ ^ %î ñ ¯]

1¹ i ± ^ % ~ ± ^ ! ± ^ " Ū # Å \$ % Í & ' (¨) * ± ^ % + & , - . Ū Ū Ÿ 1 ... † æ Å Å
1 ... † æ Å B / ñ % Ó Ô % | -200C ¨ Ç 1 ± ^ & 2 | 40C % î • Í
2¹ š • + i ± ^ % ~ 3 1 ± ^ 4 i ! 5 ± ^ " Ū # \$ i 6 7 % Í
' (~
± ^ % ŏ Ő Ū 8 9 : ; ¨ ! < = i > 9 â ? š • @ š • + i 3 1 ± ^ % ŏ ö A B ? < = + 1 C D Í š • E F Í G
Ÿ H - I J / % • Å i Ū # K Ū ¨ % L - Î » â M N % O P µ i Í

[Ū ± i QRS %]

• , ~ .) R | • , â Ē i T • Ū ± A U 6 2 2 V I Æ 4 O C H W ¨ X + 1,000 à g ' 20 â Y ¨ Z Å , [9 ¨
• Å , 2 | -200C Æ -800C % ¨ \] ^ _ ` a Í
• ° ~ • E D T A E b c d K ´ e ^ Q R Ū ± ¨ ú . Ū ± A Q R + i 30 â Y Í | 2-80C 1,000 à g ' 15 â Y ¨ Z Å ,
[9 ... † ¨ Æ . Å , 2 | -200C Æ -800C % ¨ \] ^ _ ` a Í
» ¼ ½ ° ~ ¥ f g h i » ¼ i î ½ ° ï j " k ¥ f
10 Z " ¶ » ¼ l ¨ A ® m P B S Ő 0.01 mol / L ¨ pH = 7.0 - 7.2 Æ Ē , ê n • Å ¨ ½ ° ø o Ñ p Í
20 . » ¼ q r V I ¨ ½ i s 2 A t Å i u v w Å Å ä å Å (x y I S 007 ¨ ° z { | Ū f „ i } ¾ ĺ µ ~ •
€ ¥ f g h i ä å Å) i • , L ÷ Ē Ő Ē V i » ¼ f „ ... † Ø Í Ő L ¶ ± ^ = 1:20 - 1:50 ¨ % ... ~ 1 mL Å Å ä
å Å Ē Š s 20 - 50 mg » ¼ ± Í Ø
30 . < * i Ē • Å Ž H • • ' ' " " , Í
40 . i î ü i ½ ° Å 10,000 à g ' 5 â Y ¨ • — — ¨ Å , [9 • | ... † Æ 2 | -200C ~ % Í
¾ ĺ Å Å Å ~ A â ã ± = ™ Ø ¨ ¾ ĺ ï š • / ~ j " ' ' ~
10 > œ ¾ ĺ ° • • m P B S ž ž , ê ¨ X + • Ÿ f „ | ¨ | 1,000 à g ' 5 â Y +) R Í Ő Ē Ē ¾ ĺ 9 E
H ' ¨ ¥) R Ø Í
20 .) R * i ¾ ĺ • m P B S ê 3 ? @
30 . ¾ ĺ • v w Å Å ä å Å p Ē " | 7 K 107 C ¾ ĺ / S ¨ ¨ ... © ï „ ¨ ¾ ĺ 9 / ^ « • • - ' ' " æ Å " , Í
40 . Ū ± | 2-80C 1,500 à g ' 10 â Y ¨ • — — ¨ Å , [9 • | ... † Æ 2 | -200C ~ % Í
¾ ĺ Å Å Å , Æ Ç Ē — — Ū ± ~ & 1,000 à g ' 20 â Y ¨ Z Å , [9 ... † ¨ Æ . Å , 2 | -200C Æ -800C % ¨
\] ^ _ ` a Í
' (~
1¹ / Å Ū ± i | % ¨ 40C % V | 1- ¨ -200C ¥ • H 1 C D ¨ -800C ¥ • H 2 C D Í
2¹ Ū ± ® ¨ æ • k ° ± 2 + ... † 3 © ¨ • † æ • Ū ± ¥ ´ ^ a « † µ ... † Í
3¹ Ū ± š • ø ° ä ¶ . " U 6 ¨ ¨ ¥ ° Š € š ™ a Á Í
4¹ , | 1 ¶ ... † Ò { ¨ ° » ¼ ½ š • • , ¾ ¥ O • ° d K ± ^ a « ... † Í

[Lumi nex200 â ã ô]

- 1. â ã ± ~ 50 u L @
- 2. Ē • g h ~ Š á Mag P l e x ;
- 3. ĺ Š á ¶ ~ 50 Å / Å ;
- 4. M F I Å ~ Medi an .

[± ^ Ū î]

1¹ š • ø . i ± ^ ý Ū ± ä ¶ . " U 6 Ő 18 - 250 C Ø ¨ ... © • ± ^ % A - Ā I J Í ¥ Ä š • ¨ & ž Z ® ±
? ± = ï ï Ū 8 ý ± ^ ¨ ú . 3 1 i Ū 8 ñ ± ^ ! Å µ 8 Æ % Í

2¹ ŪŪÝ(ÇÝ)~ È" ŪŪÝŠs ŪŪÝƆBĀ0.5mLαÉü+U6Ê2¹ È10âYαfIžžÌÍŌ\]Í
 Ī ØαÇé7K2000.0pg/mLÍ ŪĪ 7CƆBŪŪÝĪ EP αÈCEP ÈŠs300DLĪ ŪŪÝƆBĀα...Ń \$
 z?Ō^ ƆBƐ 2000.0pg/mL, 500.0pg/mL, 125.0pg/mL, 31.25pg/mL, 7.81pg/mL, 1.95pg/mL, 0.49pg/mLα
 ŪŪÝƆBĀ(0pg/mL)α≠dKŌ,, ŌÍ K%Ō<=³ © < αÈ? <=&š•vĪ ŪŪÝæĀÍ

item	1	2	3	4	5	6	7	Tube
Hsp27	2000.0	500.0	125.0	31.25	7.81	1.95	0	pg/mL

3¹ ...†æĀĀñ...†æĀB~ Detection A ñDetection BĀš•ø&•ŌŌŌ~ÆxØ' ' ' α/Š ŪŪA
 œÆ" ÉĪ Ā - †* ŪÍ Š•øâŪ/...†ƆBĀÆB 1:100ƆB(...~10DL...†æĀĀ/990DL...†ƆB
 ĀA)αÝâƆ½αƆBøB{ @oàáüĪ È? <= ĩ ĩ ĵŲĀĪ (100DL/Ō)α<ãĀĪ ĩ ° ĀĪ 0.1-0.
 2mLÍ

4¹ éêëĀ~ 580mL Æ • Šs20mLêëĀŌ30àØƆB" 600mL" ädĀé7Í
 ' (~

1¹ ŪŪÝĪ ƆB≠Āα≠AŌÈ^a «Í

2¹ ŪŪÝ&| Š•ø15âYĪ ĀĪ Í • ŪŪÝăĂš•-?Í

3¹ ŪŪÝ¹ ...†æĀĀä dĀ¹ ...†æĀBä dĀ&š•É° Ī ƆBĀĀĪ αƆBĀ≠ĀƆ•Í • Āæžžçè
 ÝâƆ½α\]ÍÍÍ K%Ō<=³ ©Ī ŪN< &š•ÆŲ αúƆŪÆŲ Ā÷Í &z{ ĩ ĩ ŲĒĀ
 Ī α, Ų≠, š•ÆŲĀĪ Ī ĵ " Ō... Z...†æĀĀĪ α-?≠, V| 10DLØα/\]êr é7èĪ Í

4¹ &Í p_š•Ī ŽƆBHĪ ŪŪÝ¹ ...†æĀĀä dĀý...†æĀBä dĀÍ

5¹ êëĀŌ30xØÈ... ³ Ī ā@α&o6ð" U6αžžƆ½α" *³ Ī ETæĀñ^a «ĀĪ Í

6¹ †^%Èòâ†^K ĀαóòĪ â2rädĀ+š•αAâ2HõÈ9Ā•Kö÷ LŲĪ Æ Løùα
 /ñ<=È •úü÷7Ī æêr <=³ ©≠ŪNαý" ETpĒÍ &š•³ Ā2Í

[Ū±' ']

1¹ ±ÿ å †^%± α≠ •š••†^% êrĪ ± ú α&š• š•øÝâ * ±Ī
 9Ăš•Ųα@ Ý Ī ±Í

2¹ <=ø° o@† ±È †-é7Í é7≠AŪŪ Ī ÍĪ α•ô NμÇ μ<=Ī² ÝƆ
 BŌŌÍ...© ÝÈ †-é7H ÆH α& ±Ū" Ī ƆBÆé Í ±ƆBĪ •PBSÍ

3¹ ... ±≠ Ī A> œ• ±™È αōö^a «@<==ŌÇ < αú' (±Í

4¹ š•ĵ ĀĀĀĪ Ī Ī » ¼½° Æ¾ĵ ùZĀ9Ăk | ĵ -LĪ s ! <=³ ©" Ī Í

5¹ ±K¾ĵ ĀĀĀ, α•K•g ±Ç#•c\$ α...~¾ĵ %&¹¾ĵ ŌŲ¹Ō Ī J' α /9Ā A
 ...†≠@Ī () Í

6¹ *Xf,, Æp»f,, α +, -ñ. -p»f,, α9Ā•KS±GÝ š•Ī...†' ñ/O' ≠1â
 α¾≠x...†@Í

7¹ õöš•vw ±α% Ī JH29Ăk•f,, 3ĂÆ4<¾ ! <=³ ©" Ī Í

[5d67]

1¹ . <=ŌĪ ÈŌÍ Šs200ulâăăăĀ•/®8α 9+A ŪŌ ÷ĀU6: 10âYα™+ŌÇŌÍ
 Ā α[9•|Š 5dÍ

2¹ Š ~ aŪðŪŪŌ¹ † ÝŌ¹ Ō,, ŌÍ ðŪŪŌŌŌαz?Šs100DL≠f é7Ī ŪŪÝŌ; †^ ŪĪ 2
 ØÍ Ō,, ŌŠ100DLŪŪÝƆBĀŌ; †^ ŪĪ «<6² +- Øα1ŌŠ † ÝŌÆƆB+Ī ÝØ100DL
 LαÈŌŠ10ulŠá α ŪŌŠĀŪŪα37ŌC ŪŌ ÷6ð1.5VI α Í =>ð2K800rpmα ?2-4mm
 α@AŠá-3Í

- 3¹ ĀŠ 2āY+• Ā Š %Bi %&~ ŌÇx¥• èéÍ
- 4¹ ÈÓŠ...†æĀÄdĀ100DLŌŠ• øai Øx ŪŪŪx37OC ŪŌ ÷6ð1VI x Í =>ð2 K800rpmx ?2-4mmx@AŠá-3Í
- 5¹ ĀŠ 2āY+• Ā ÈÓ• 200DLi èèĀèèxCi 1-2āYx• ÓÍ Ā Í p_eŌ3? Í ²+-?èè+x ZÆD®31i èèääĀx. ŪŌDEA FĀx. G AÓÍ Ā Tò Ç Í †Hōf9í Í Š èŌHI ErÍ
- 6¹ nŠ ÈÓŠ...†æĀBädĀŌŠ• øai Ø100DLx ŪŪŪx37OC ŪŌ ÷630āYx Í =>ð2K800rpmx ?2-4mmx@AŠá-3Í
- 7¹ ĀŠ 2āY+• Ā ÈÓ• 200DLi èèĀèèxCi 1-2āYx• ÓÍ Ā Í èŌ3?xj " f 675Í
- 8¹ nŠ ÈÓŠèĀ150DLx : 2āYxšŒ• JŒŒ%&x [9ĀHKŌÍ ' (~
- 1¹ †^ Ūî ~ Ūî -? <= ì „ ĩ Ū8xÇÈi 9LŒŌŌĀ: ~ x| x! 5> œ• „ >% x/î ~ ? š• Í
- 2¹ Š ~ <=5dĒ&š• -?< ĩ MN x\] øùÍ Š I' (¥„ Ōi G- x. ÝŠ| ŪŪŪò x, ¶¥PñŌœxžžQÍ P½Í S^° †^ Šs- xŠ HōĒ«-CŌS²+-CŌŠ I J J R, ¶VŌ-ŒTi A10āY/Í Øx...©U¹ x. k ! ¥fi V®6ðWI J xL ¾œXY° ±* †¶Āi Ū N< ñp_< ÍKZ†Āi ŪN< x¼½ð2_Ōª « <=Í
- 3¹ 6ð~ K@A Ý [x<=I &. ŠĀÉÆŪŪi ŪŌ2| 8%Ō x/\] Ā [xèŌ+°, -ª « ~ 65d x\] I ^M° \] ŪŌ' | Ç_%&xfi ° ` abcdµi 6ðI Jý67Í
- 4¹ èè~ Ýæèèefp„ xAÈ?èèHōĒxM„ . èèĀETŌÇi ...©š• í Í èŌHx&Aghš• +ñ• | i j <=HōĒÍ
- 5¹ ...©<=UÍ 87 | 60%x¼½š• Š8÷ù 87 kÍ

[<=, ']

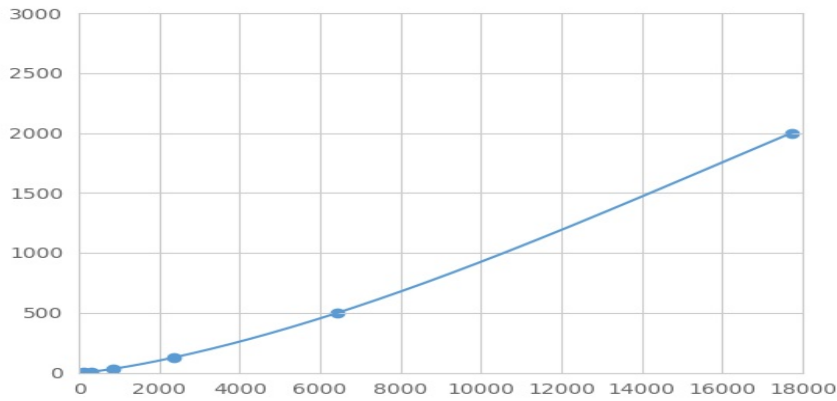
. Hsp27' x| Š< Œ• I mxi r nÉo xpŒ• ĒāŪŠs ŪŪÝÆŪ± xÇÈHsp27Sq¥| nÉo Āi ' ³ r xX+Šs--c| i Hsp27' xA. ³ ri --c| ' è÷+xŠsPEŪsi t ýc xPE x u [+ xB { MFIĀŌMedian Fluorescence IntensityØi 1 V ý ÝÈi Hsp27é 7J i ÉÉÍ • Luminexā ã ò † µ x ā á Ýé 7Í

[à á]

v ŪŪÝñ ±MFIĀEnŌ„ ŌMFIĀ+dŌŌwxŌŌx...ð2_Ōxy° ZÇk Āàáí / ŪŪÝi é 7 Kz { ŪŌÆ Ō { ŪŌxMFIĀK | { ŪŌÆ Ō { ŪŌx } ®ŪŪ Ō² j öj ° z ~ • j ò à á i R2Ā I µ x / R2ĀĒ• , | 1KüŌi ¼½š• f „ i d ...Æª « ā ā x...curve expert 1.30xβ { ÝMFIĀx ŪŪ †®É° i é 7x† / ÞBŌŌ@Æ• ŪŪ—i é 7SMFIĀàá®ŪŪ i ~ • j öj x. Ýi MFIĀ^ sj öj x ā á ® Ýé 7xñ† / ÞBŌŌx [K Ýi <ā é 7Í

[%hŌ{]

KZŠ| à á x, é 7Kí 4¶¾MFIĀK• 4¶x° » } Ōi 4Q• ŪŪÝi MFIĀdK | { ŪŌx< ØxŪŪ Ýi é 7Kz { ŪŌy< Ōi f i KZ † =³ ©i xŒ< xŌĒèùÝi Ō, • Ō { ¾e ŌĀÍ ¼½š• ŌĀō ŽŪŪ Ōi | <=5d8Æi ¥f Ō...5d ¹ Ā• • ¹ èŌ• • ý 678Æ' ØxŪŪ i MFIĀK i ' Í ùÝi ŪŪ žÝ' x<= ì „ B { í î i <=ðŽŪŪ Í



(27kDa€ • , f „)...† ‡ ^ %ÜÜ

[...† _____]

1. 95-2000pg/mL.

[² ...† "]

† ÂK20CÖ„ ÝÕ[ÛÜÝÞBÂØ† µï k ÂŠ<ÒÛÜì ° ï é 7Í

[_____ <]

± ‡ ^ %• | ...† Hsp27α Ž...† SÇÈÉ" —L• œX— —^° Í
 | ~ * • • ñ ± l ™i " i α ¥ 9ÄEr É Ê Æ É" —L— —^° ...† α • † ± ‡ ^ % 9ÄS Ž...
 † ï ÇÈ—L — —^° Í

[é | 7]

é | 7• Ý† µÂï 4' š ÒCVI \$Í CVÖ%Ø = SD/meanà 100
 > Í ï ~ Zf> ? ‡ ^ % 1 È¹ ÂµÂ ±ª « µ¶...† α Èœ ±q• † µ20
 ? αâÜàá¥f é7 ±ï k ÂñSDÁÍ
 > Jì ~ • Z3C¥f> ? ï ‡ ^ %âÜ 1 È¹ ÂµÂ ±ª « µ¶† µα ÈC ±š • f ï ‡ ^ %p_†
 µ8? αâÜàá¥f é7 ±ï k ÂñSDÁÍ
 > Í ï ~ CV<10%
 > Jì ~ CV<12%

[Pµ<]

Ž† µα ‡ ^ %A ï ž ! ¼½67% αÿ< 3 > . V | 5%Í
 K V | ò • c ‡ ^ %j ÇØ+...† Âï ° ±α<=Uï Èα8Æì , ¶%B¬! α¥ÇÖ<=UÍ 67¹ 8
 7ñ6ð8ÆÍ Ç? f ï <= | lª « 5d9 §¨ Kèì Í

[<=©ö]

1¹ <=øÛÜÝ¹ ‡ ^ ñ ±Üî @
 2¹ Š ÒÛÜÝÆ ±Ø100ÐLαŠŠá α37OC ÛÔ ÷ª ð1.5VI @
 3¹ Š ÒÇαŠ...† æÂA100ÐLα37OC ÛÔ ÷ª ð1VI @

4¹ Š èÔ3?@
 5¹ Š...† æÃB100ÐL¤37OC Í^a ð30âY@
 6¹ Š èÔ3?@
 7¹ ŠèÃ150ÐL¤ : 2âY+KÒÍ

[>_œ]

1¹ | ^ 8Æñ« •• k-¥Ä Ýx-ùÝi , ®^a «Tmî ^ µSâã¤±GÝ9Ä A-
 µi L¶••° ±Í
 2¹ ²²i <=³ ©S†^i <¹ <= i ÉÊ5d/ñ<=£¤|qÉÊ¤&ž Üî Ý i Û±i œÍ
 3¹ ¥f> ?i f-GÝ9Äk §³ i Ü¤...~ ...t" ¹ ´ µ7¤&z { †^%Í > œ•^a « <=5d¤¶• ,
 •->œ•žd' Í
 4¹ ±†^%â¹ †^ â¹ š•¤¥Äp•Ç° i è-ï GÝÍ â ` abc±†^%i <=> œ»k<*²
 i ...t³ ©Í
 5¹ A ñ6ðHöÈ\] . †^¼½A¾¿ÉÍ †^" É ÉÀ/@A [ý(—øù¤•Kf„ Á
 i Ç#. !†Â¥ÜNÍ
 6¹ Á Âi ÃÖÖÖÈ9Äk §³ —L¤†Ki f^ Ä¤¥k <=³ ©êr\] ° ±Í ÛÖAš•
 i L uÄÆZ®¤&í ùøZ®Í
 7¹ | 5d ¥gh¹ 5dÇèÆpè••KÒðöÈ' M 9Ä ! pè³ ©i G-Í <=ø&É¾ÉK> œ
 •úÉ†ó÷Í
 8¹ A ±i î /ñ5dî ÈCHöÈi 4j M9Ä ! ¥fi <=³ ©¤ /KZù <=³ ©i 9p_<¤<
 =i È-65dMi „ ` aTi Í
 9¹ †^%A®Í ø ŽH` aL...¤Í | ²Î 8Æñv<=U8Æi '¤9Äkêr <=³ ©S®Í ³ ©¥-
 !Æ¥f>?†^%> Jì Ì ¹ i () Í
 10¹ ±†^% SÇ° Ì Ðf g†^%Æ¥fj " ...t f-| i —i GÝù ^¤ /¥Ñn...t³ ©¥-! i
 () Í
 11¹ • | i î †^%È´ i] Ò, £fKp»f„ ¤Í | î p»f„ •Zi ÓÃ¹ i ÔšÖ¹ öj j j '
 v ¥f¤ /° »•" %Ó• †^%9• | Ç° ý p»f„ i ...t¤£f° »f¥ööš• †^%...t p
 »f„ Í
 12¹ &®Ö ÝÈ †—i é7¤Æ ðà®<=Nµ Ý...t é7Í x i ' ' 9/@A ±È ...—i ¶•
 ®†^%...t Í
 13¹ • †^%9Ä¥" • | ^ <=± < ¥Nµi Ø<= Ýi ...t¤%...¤„ • Ûn<=' Í
 14¹ ±5d> œf " • | 48T†^%Í
 15¹ • †^%žÝÇ£š•¤... Ç• | §" ©^aÆ\] Ç° • Ú¤° ý . ¥ • †G-ï ÛÛ ¤Ý¥P
 B\] " à \Í

[ÛÜÁá]

ÛÜ	9Ä, •	Áaj ā
ÛÜ i	ÛÜÝÛî ¥i N	^a « i Ni ÛÜÝä 7Pß
	Zñèè¥Ýā	Ýāi Zñèè
	Ä¥éN	...t ýpi Ä÷

é 7	Š á ê ë ¥ Ý â	! > œ • „ > Ý â : ê ë ý C ĭ
	Ɔ ½ ¥ Ý â ý Z † ^ ¥	Ý â Ɔ ½ ý Z † ^
	Ɔ _ š • ĭ ĭ ÷ ý Û Ú	š • Š ÷ „ å æ v ĭ ĭ š • v ĭ ĭ ÷ ý Û Ú
	Š ¥ é N	... † ý Ɔ ĭ Ă ÷
MFI Ā	Ě Ó Š ĭ † ^ ¶ ¥ é N	Ɔ ĭ Ă ÷ æ é N Š s † ^
	Ě Ď Ĭ J ¥ ĭ N	% Ó Ý ĭ Ě Ď Ĭ J
	Ě Ď Ě 7 ¥ ĭ N	† ^ „ k • “ U Ě ú % Ó Û N ĭ Ě Ď Ě 7
	PE Ū s — Ç	å æ † ^
	PE Ū s — Ɔ ß Ò Ò ¥	! 5 > œ • < = 5 d
	• ® K Ò Ĭ J K Ò	A > œ • ¼ ½ ĭ K Ò Ĭ J Ĭ K Ò
± Ā	¥ ĭ N ĭ ± ĭ j j	ĭ N ± æ š • v w ± ^a « < =
	¥ ĭ N ĭ ±) R ý ' ' j "	Q Z ĭ N ĭ ±) R ý ' ' j "
	† — L A ± Ě Ĭ ¶	š • v w ± æ Ɔ _ < =