

プレートアッセイの信頼性を高める

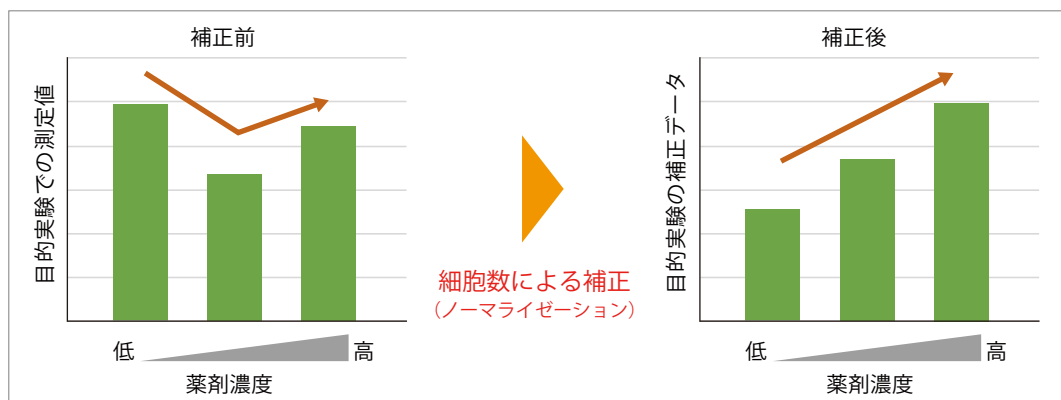
核染色ノーマライゼーションキット Cell Count Normalization Kit

ノーマライゼーション 同仁 検索

本キットは、核染色試薬(Hoechst 33342)とプレートアッセイ用に最適化したバッファーを同梱しており、試薬を細胞培養液に添加するだけで、簡単に細胞数を評価することができます。

補正の必要性

マイクロプレートを用いた細胞の解析では、得られる結果がウェル中の細胞数によって変化する場合があります。その際には、サンプル中の細胞数に応じた測定値の補正(ノーマライゼーション)が必要になります。



従来法との比較

プレートアッセイ時の測定値の補正には、細胞数または細胞数と相関する指標として、核やタンパク質量が使われます。これらの検出法の中で、本キットの核染色法は最も簡便な操作で多検体の解析が可能です。詳しい操作法は次ページをご覧ください。

	本キット (核染色法)	細胞数 カウント法	タンパク質 定量法
操作の簡便性	○	×	△
多検体処理への対応	○	×	○
生細胞測定	○	○	×
細胞溶解後の測定	×	×	○
実細胞数と一致する	△*1	○	△*2

*1: 核数が変動する系では実細胞数と異なる場合があります。

*2: タンパク質量が変動する系では実細胞数と異なる場合があります。

従来法と比較したお客様の声

本製品発売前に多数のお客様に試作品をご評価頂きました。その中で頂いた声をご紹介します。

細胞数カウント法のご使用者

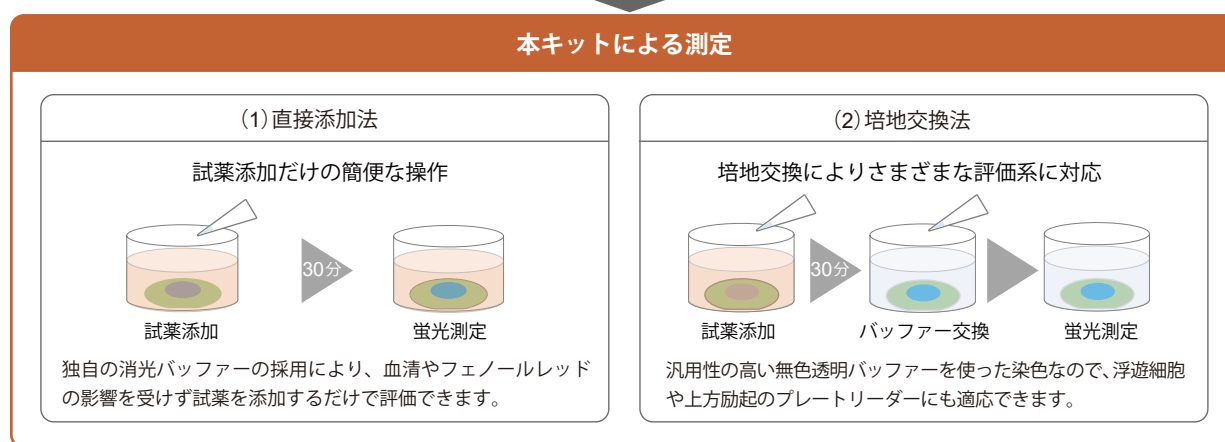
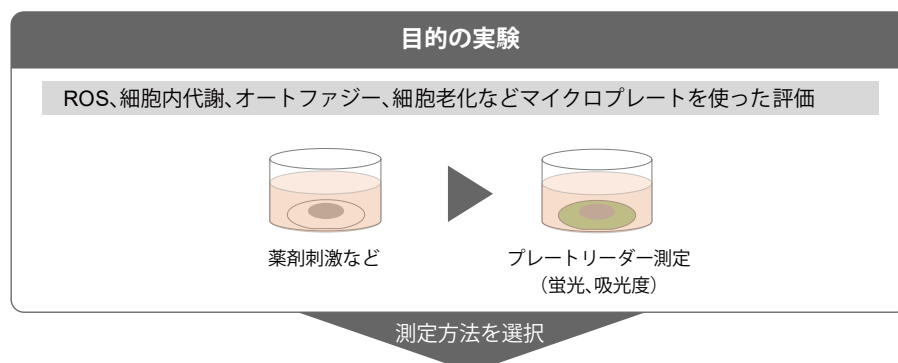
細胞数カウントは非常に面倒だったが、本キットの簡便操作はとても魅力的。

タンパク質量定量法のご使用者

タンパク質発現量に影響を与える薬剤で評価していたので、核を指標に細胞数を評価したことで明瞭な補正ができた。

操作の流れ

目的の実験で使用した細胞を用い、本キットで評価します。
測定方法は、実験に応じて(1)直接試薬を添加する方法、または(2)培地を交換する方法を選択できます。

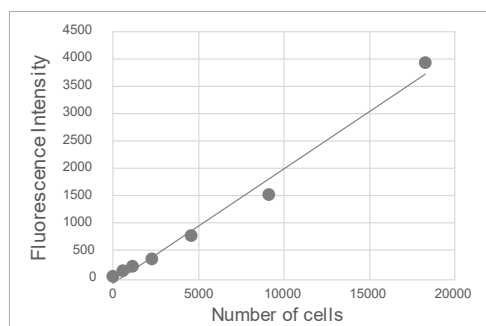


細胞数との高い相関性

プレートアッセイ時のデータを補正する際は、細胞数に相当する評価法を用いる必要があります。下記実験では、細胞数に応じた蛍光強度変化の確認および実験例としてプレートアッセイ時のデータを本キットおよび細胞数カウント法で補正を行い比較しました。

細胞数に応じた蛍光値

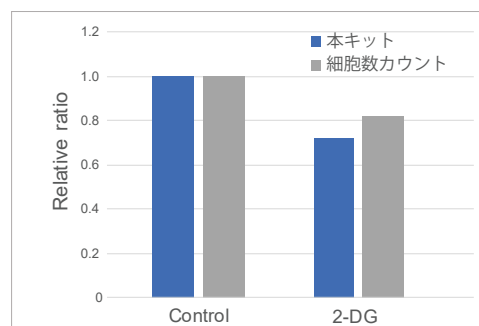
細胞数に応じて蛍光強度の変化がみられ、直線性の高い結果が得られました。



HeLa 細胞を段階希釈し、96 穴マイクロプレートに播種、一晚培養後に本キットにて測定しました。

細胞数カウント法との比較

実際のプレートアッセイ時(乳酸測定)の補正では、細胞数カウント法と同等の結果が得られました。



HeLa 細胞へ 2-DG(2-deoxyglucose) 添加の有無で 24 時間培養後、培養上清中の乳酸量を Lactate Assay Kit-WST (製品コード: L256) で測定。得られた結果を本キットまたは細胞数カウント法の測定値にて補正を行いました。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Cell Count Normalization Kit	200 tests	¥ 8,000	342-09393	C544
	1000 tests	¥ 20,000	346-09391	

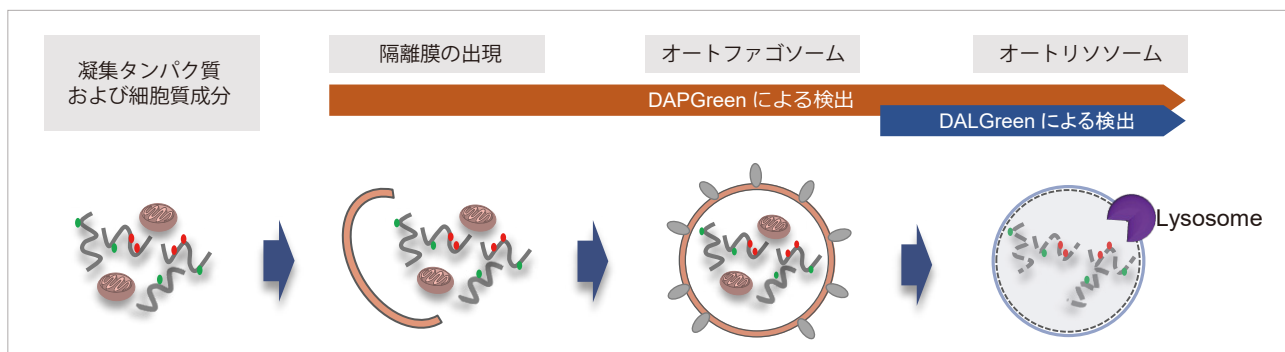
オートファジー検出をより詳しくより簡単に

オートファゴソーム / オートリソソーム 蛍光検出試薬
DAPGreen/DALGreen - Autophagy Detection

オートファジー 同仁 [検索](#)

オートファジー検出原理

オートファジー検出試薬 DAPGreen はオートファゴソーム膜に取り込まれることで蛍光を発します。一方、DALGreen は凝集タンパク質等が分解されるオートリソソーム段階で蛍光を発します。この様に DAPGreen と DALGreen は、“オートファゴソーム形成およびリソソームとの融合・内容物の分解”の過程を試薬の添加だけでモニタリングすることができる、これまでにない新しいオートファジー検出試薬です。



検出試薬の概要

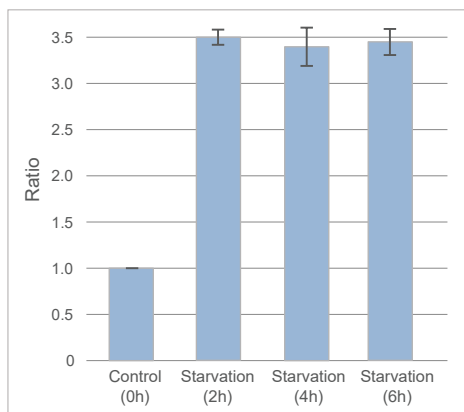
蛍光顕微鏡だけでなくフローサイトメーターでも検出頂けます。また DAPGreen では、プレートリーダーによる検出も実現しました。ご使用の装置で検出可能な蛍光特性をご確認の上、ご使用ください。

	対応装置			蛍光特性	容量 / 使用回数の目安	既存検出法
	蛍光顕微鏡	フローサイトメーター	プレートリーダー			
DAPGreen	○	○	○	Ex. 425-475 Em. 500-560 ※ 共焦点顕微鏡では 488 nm にて励起可能	5 nmol × 1 / 35 mm dish: 25 枚分 (0.1 μmol/l で使用時)	LC3-GFP MDC Cyto-ID など
DALGreen	○	○	×	Ex. 350-450 Em. 500-560 ※ 共焦点顕微鏡では 488 nm にて励起可能	20 nmol × 1 / 35 mm dish: 10 枚分 (1.0 μmol/l で使用時)	LC3-GFP-RFP など

※ 励起・蛍光スペクトル図は小社 HP にてご覧いただけます。

※ DAPGreen と DALGreen の共染色イメージングはできません。

プレートリーダーでの定量解析



オートファジー誘導後の DAPGreen の蛍光を、プレートリーダーにて検出しました。

結果

飢餓培養を開始してから 2 時間後には、コントロールより約 3.5 倍強い蛍光を確認しました。

検出条件

検出波長：Ex. 450 nm / Em. 535 nm

オートファジー誘導条件

DAPGreen で染色後の HeLa 細胞を、アミノ酸不含培地にて 0、2、4、6 時間培養し、プレートリーダーにて検出しました。

品名	容量	希望納入価格	コード	メーカーコード
DAPGreen - Autophagy Detection	5 nmol	¥ 36,000 -	340-09291	D676
DALGreen - Autophagy Detection	20 nmol	¥ 28,000 -	344-09191	D675

手軽にはじめる 乳酸測定

乳酸測定キット Lactate Assay Kit-WST

Lactate 同仁

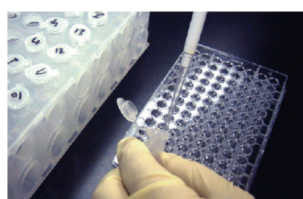
検索

細胞内代謝活性の測定

Lactate Assay Kit-WST は、解糖系の代謝産物である乳酸を定量(下限値：0.02 mmol/l)することができます。96 ウェルマイクロプレートに対応しているため多検体測定が可能です。乳酸の定量は、細胞内代謝経路の変化をモニタリングするためのマーカーの 1 つとしてがん研究分野では広く使われていますが、最近では幹細胞の分化や糖尿病研究においても乳酸を指標とした評価の報告が増えています。

操作は試薬の添加だけ

培養上清または細胞の破碎液をプレートに添加し、試薬を加えてインキュベートするだけの簡単操作です。



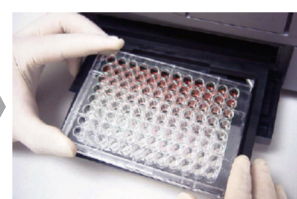
各ウェルに標準液とサンプルを添加



Working solution を各ウェルに添加



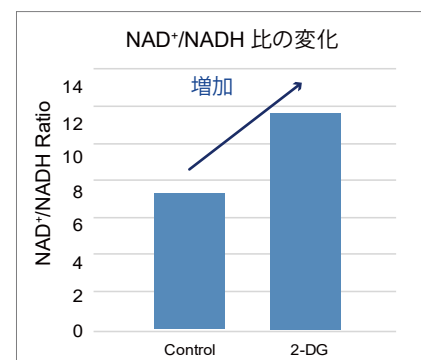
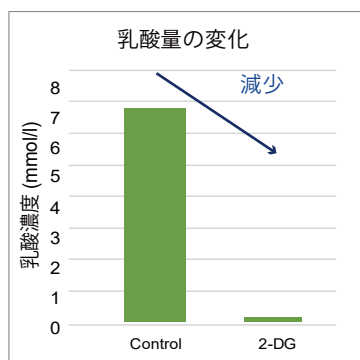
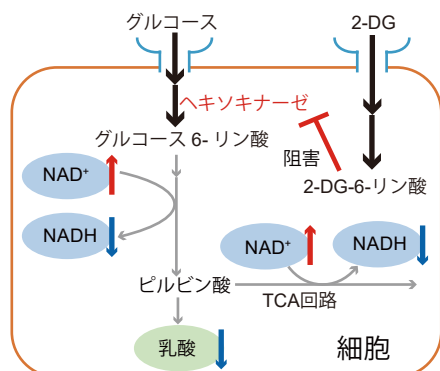
37°Cで30分間インキュベート



吸光度を測定

細胞を用いた測定例 (解糖系阻害剤 2-DG の添加)

HeLa 細胞(1×10^6 cells) に 2-Deoxy-D-glucose (2-DG) を最終濃度 6 mmol/l になるよう添加し、24 時間培養後に乳酸量および $NAD^+/NADH$ 比を確認しました。乳酸測定は、培養上清を用いて本キットにて評価し、培養上清除去後の細胞を用いて $NAD^+/NADH$ Assay Kit-WST (コード N509) にて $NAD^+/NADH$ 比を評価しました。



結果、2-Deoxy-D-glucose 添加により細胞内の解糖系が阻害されたことで乳酸量は減少し、 $NAD^+/NADH$ 比は増加する結果が得られました。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Lactate Assay Kit-WST	50 tests	¥ 29,000	343-09281	L256
	200 tests	¥ 68,000	349-09283	

- 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。
- 記載価格はこのパンフレット編集時(2018年9月)における希望納入価格です。予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。
- 試験・研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。

発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

FreeDial : 0120-052-099 FreeFax : 0120-052-806
URL : ffwk.fujifilm.co.jp

取扱店

製造元・国内問合せ先

株式会社同仁化学研究所

Tel : 096-286-1515(代表) FreeDial : 0120-489-548
URL : www.dojindo.co.jp E-mail : info@dojindo.co.jp

ドージン・イースト(東京)

Tel : 03-3578-9651(代表)