

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検出蛍光試薬

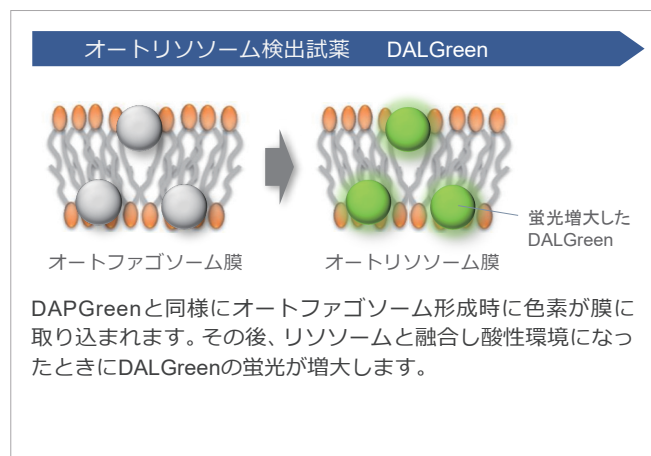
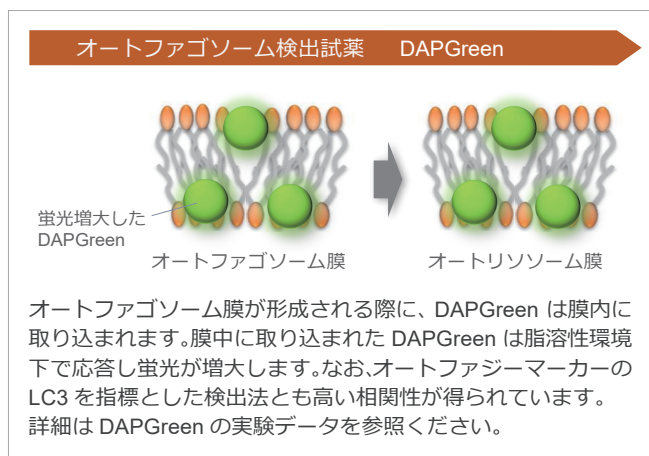
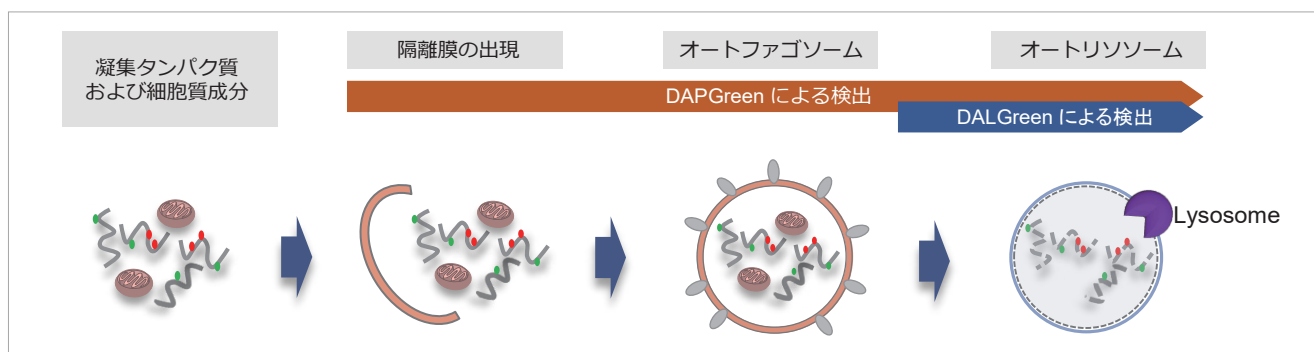
DAPGreen - Autophagy Detection

オートリソソーム検出蛍光試薬

DALGreen - Autophagy Detection

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ー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。



さらに理解を深める

論文情報

H. Iwashita, H. T. Sakurai, N. Nagahora, M. Ishiyama, K. Shioji, K. Sasamoto, K. Okuma, S. Shimizu and Y. Ueno, "Small fluorescent molecules for monitoring autophagic flux", *FEBS Lett.*, **2018**, 592 (4), 559

よくあるお問合せ

- 〈例〉・リソソームを染色している可能性は？
- ・オートファゴソームを染色している根拠は？

「論文情報」、「よくあるお問合せ」は随時更新中！

DAPGreen または DALGreen

検索

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。

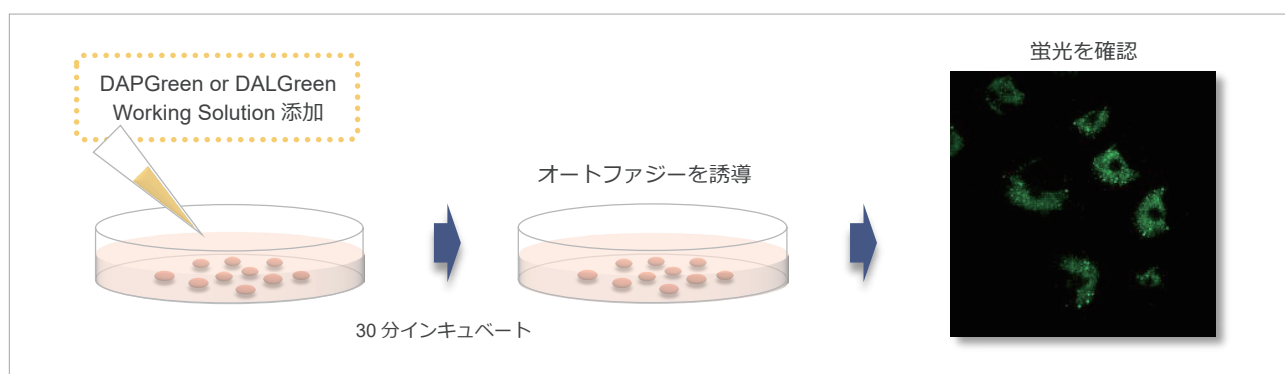
	対応装置			蛍光特性	容量 / 使用回数の目安	既存検出法
	蛍光顕微鏡	フローサイトメーター	プレートリーダー			
DAPGreen	○	○	○	Ex. 425-475 Em. 500-560 ※ 共焦点顕微鏡では 488 nm にて励起可能	5 nmol x 1 / 35 mm dish: 25 枚分 (0.1 μmol/l で使用時)	LC3-GFP MDC Cyto-ID など
DALGreen	○	○	×	Ex. 350-450 Em. 500-560 ※ 共焦点顕微鏡では 488 nm にて励起可能	20 nmol x 1 / 35 mm dish: 10 枚分 (1.0 μmol/l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

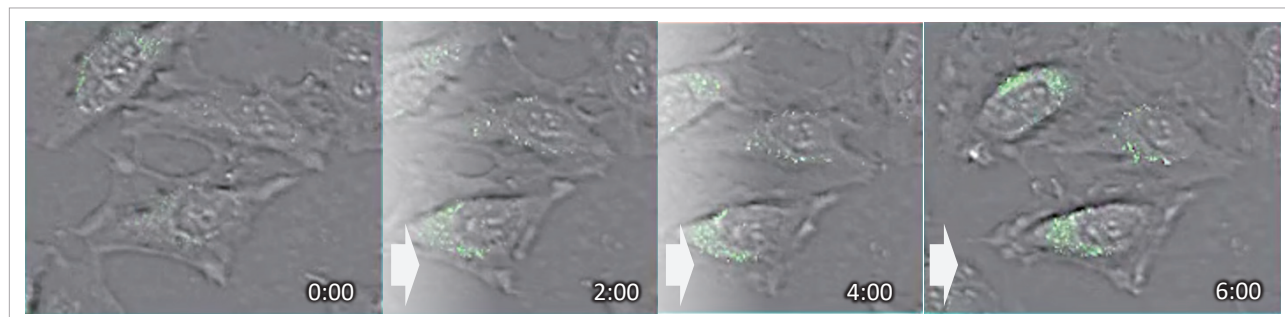
操作は試薬の添加だけ

遺伝子導入は不要です。準備した細胞に試薬を添加するだけの簡単操作で蛍光イメージングを実現します。



タイムラプスで検出

HeLa 細胞を DALGreen で染色後、飢餓培養にて 6 時間までの細胞の状態を観察した。



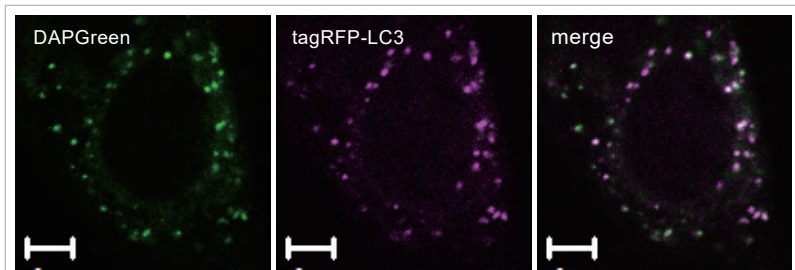
イメージング条件

培養条件 : アミノ酸不含培養培地
装置 : 共焦点イメージングサイトメーター (横河電機株式会社 : CQ1)
蛍光フィルター : Ex. 405 / Em. 525/50,
倍率 : 20X

オートファジーを誘導した細胞において、DALGreen の蛍光の増大が確認されました。本タイムラプスの動画は、小社 HP にてご覧いただけます。

LC3 との高い相関

オートファジーマーカーである LC3 を指標とした検出法と共染色を行い局在の比較を行いました。



結果

DAPGreenと、LC3 が共局在する結果が得られました。

イメージング条件

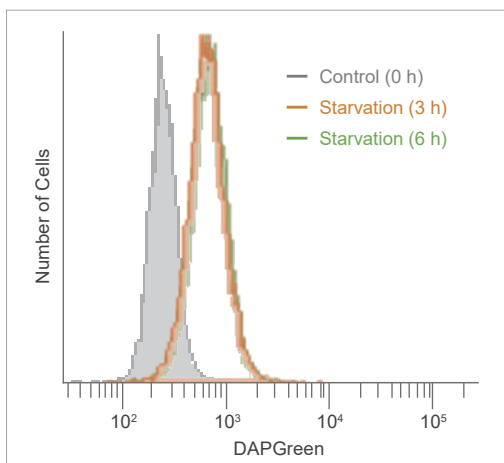
DAPGreen : Ex. 488 nm / Em. 500-563 nm
スケールバー : 10 μ m

オートファジー誘導条件

RFP-LC3発現HeLa細胞にDAPGreen添加後、Rapamycinによりオートファジーを誘導しました。誘導から4時間後に、DAPGreen及びRFPの蛍光像を共焦点顕微鏡にて確認しました。

フローサイトでの定量解析

オートファジー誘導後に、DAPGreen の蛍光をフローサイトメーターにて検出しました。



結果

飢餓培養開始から 3 時間後には、強い蛍光シグナルが検出されました。

検出条件

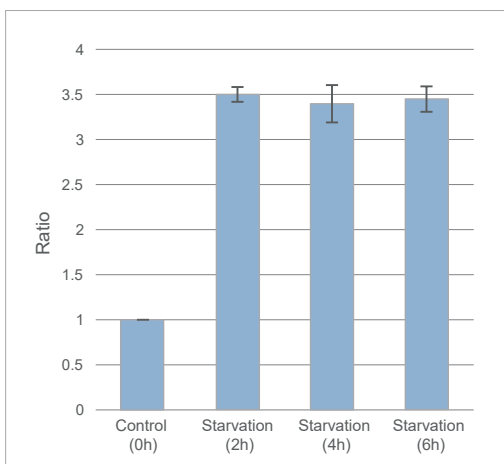
検出波長 : Ex. 488 nm / Em. 500-560 nm

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、3、6 時間培養し、フローサイトメーターにて検出しました。

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

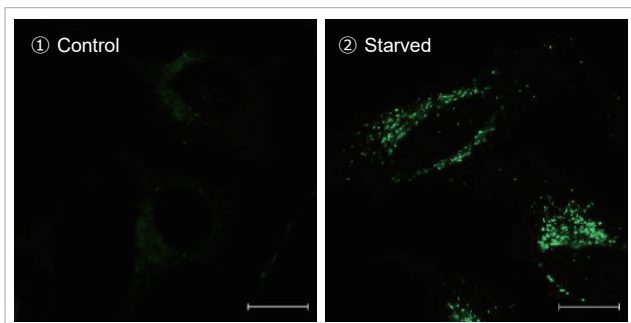
検出波長 : Ex. 450 nm / Em. 535 nm

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。

顕微鏡によるオートリソソーム解析例

オートファジーの誘導の有無で、DALGreen による蛍光像を共焦点顕微鏡にて確認しました。



結果

飢餓培養によりオートファジーを誘導した HeLa 細胞において、DALGreen の蛍光が増大した Puncta (斑点)を確認しました。

イメージング条件

検出波長 : Ex.488 nm/Em.500-563 nm
スケールバー : 20 μ m

オートファジー誘導条件

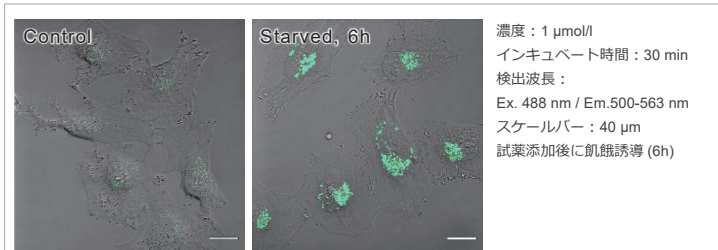
DALGreen にて染色した細胞を以下の条件で培養しました。

- ①Control : 増殖培地で 6 時間培養
- ②Starved : アミノ酸不含培地で 6 時間培養

MDC との比較

DALGreen と既存のオートファジー検出用蛍光色素 MDC (Monodansylcadaverine)を用いて、飢餓条件下で培養した HeLa 細胞におけるオートファジーを検出しました。

DALGreen によるイメージング



濃度 : 1 μ mol/l
インキュベート時間 : 30 min
検出波長 :
Ex. 488 nm / Em.500-563 nm
スケールバー : 40 μ m
試薬添加後に飢餓誘導 (6h)

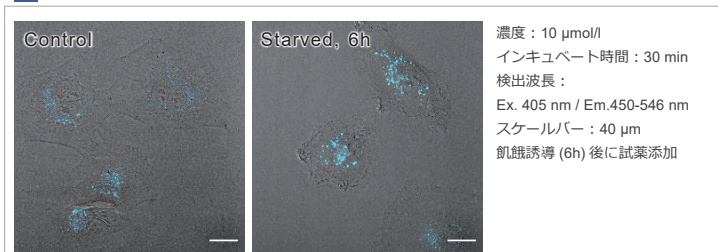
結果

DALGreen にて染色した細胞では、飢餓誘導による蛍光強度の増大がみられました。一方で、MDC による評価では、蛍光強度の変化は、ほとんど見られませんでした。

波長

MDC の極大励起波長は紫外域にあるため 488 nm での励起は困難ですが、DALGreen では共焦点顕微鏡による 488 nm 励起での観察が可能です。

MDC によるイメージング



濃度 : 10 μ mol/l
インキュベート時間 : 30 min
検出波長 :
Ex. 405 nm / Em.450-546 nm
スケールバー : 40 μ m
飢餓誘導 (6h) 後に試薬添加

染色操作

DALGreen : 試薬添加 $\Rightarrow$ 飢餓誘導

MDC : 飢餓誘導 $\Rightarrow$ 試薬添加

DALGreen (はオートファジー誘導前に試薬を添加するため、オートファジーをライブでモニターできます。

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

- 1) 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。
- 2) 記載価格はこのパンフレット編集時 (2018年3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。
- 3) 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。

キーワードで検索

Autophagy 同仁

検 索

関連製品

マイトファジー検出キット

Mitophagy Detection Kit

老化細胞検出キット

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- β Gal

国内販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

URL : ffwk.fujifilm.co.jp
Free Dial : 0120-052-099 Free Fax : 0120-052-806

製造元・国内問合せ先

株式会社 同仁化学研究所

Free Dial : 0120-489-548 Tel : 096-286-1515(代表)
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)

取扱店