

これから始める 細胞内代謝測定

細胞内代謝測定

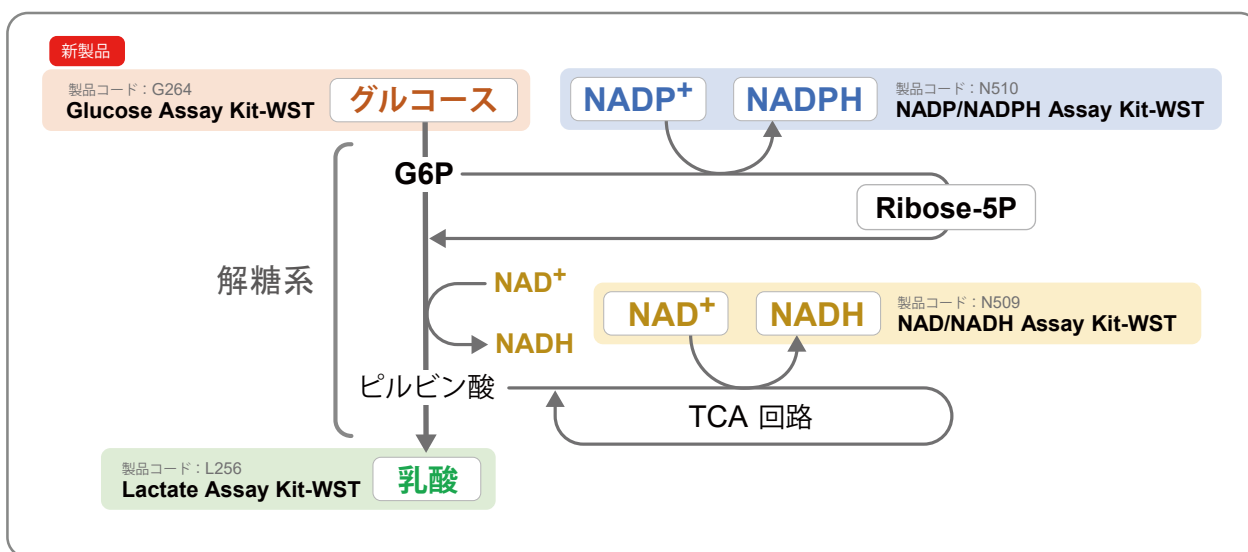
グルコース、乳酸、NAD/NADH、NADP/NADPH 測定キット

小社では、はじめての方でも簡便にお使い頂けるよう、測定操作および前処理に必要なコンポーネントを最適化しキットとしてご用意しました。また代謝に関する理解を深めるため、代謝マップや測定意義、引用文献を小社 HP に掲載しています。

[代謝マップ 同仁](#) [検索](#)

ラインナップ

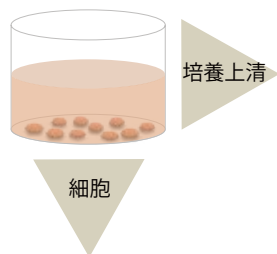
細胞内の代謝システムである、解糖系や TCA 回路、ペントース-リン酸経路の解析は、細胞状態を理解する上で重要であり、グルコースや乳酸、NAD(P)⁺/NAD(P)H などのエネルギーおよび代謝産物を指標に評価されています。



はじめてでも簡単な操作

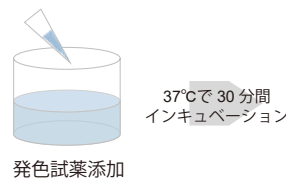
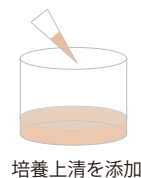
はじめて代謝を評価される方々のご要望にお応えし、測定に必要な試薬やコンポーネントを同梱。より使い易い操作性を実現しました。

細胞を準備



グルコース **乳酸** の測定手順

- ・培養上清をプレートに移し発色試薬と混合するだけの簡便操作
- ・培養上清を2つに分け、Glucose および Lactate の両キットでの同時評価が便利



37°Cで30分間
インキュベーション

解析

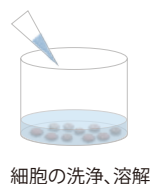
プレートリーダー
吸光度測定 (450 nm)

※細胞をサンプルとしても使用可能です。詳しくは製品 HP へ。

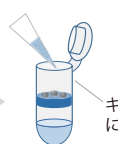
NADP⁺/NADPH **NAD⁺/NADH** の測定手順

- ・前処理をより簡便にするため、細胞溶解バッファと除タンパク質チューブをキットに同梱*
- ・NAD(P)H と NAD(P)⁺ の測り分けは、サンプルの加温操作のみで完結

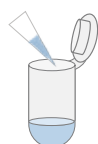
同仁化学だけ!



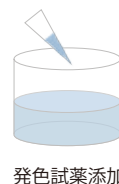
遠心



遠心



NAD(P)⁺
を加熱分解
(60°C)



37°Cで1時間
インキュベーション

解析

プレートリーダー
吸光度測定 (450 nm)

*本キットでは n=3 で 12 サンプルと標準サンプル 8 点の測定が可能です。そのため本キットでは、除タンパク質用チューブを 12 本同梱しています。

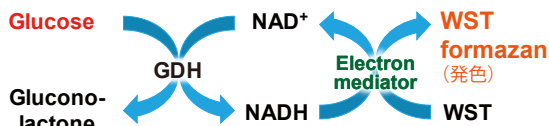
グルコース、乳酸の測定

グルコース測定キット

新製品

Glucose Assay Kit-WST

グルコースは、主要なエネルギー代謝指標の1つです。糖尿病などの研究における糖代謝の指標としてだけでなく、がん研究においても、細胞内代謝の変化をモニタリングするための指標としてよく利用されています。グルコース濃度 0.02 mmol/L から測定することができます。

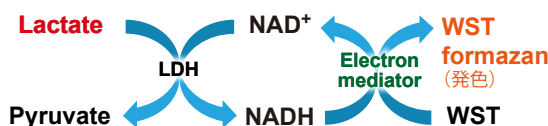


測定原理

乳酸測定キット

Lactate Assay Kit-WST

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。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指標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、ミトコンドリアの機能解析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。

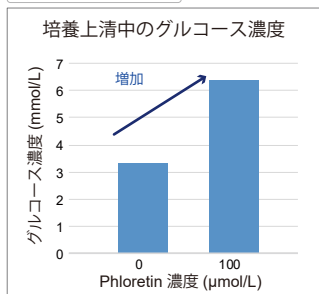


測定原理

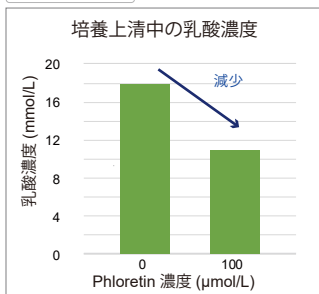
グルコース及び乳酸の測定例

グルコーストランスポーター阻害剤である Phloretin を Jurkat 細胞に加えた際の代謝活性の変化を Glucose Assay Kit-WST 及び Lactate Assay Kit-WST にて確認しました。

グルコース測定キット



乳酸測定キット

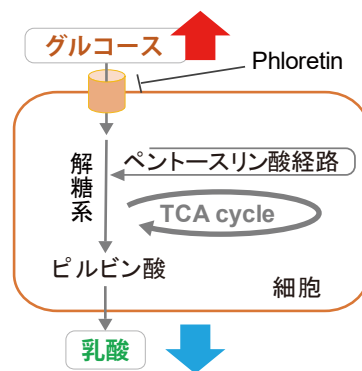


<実験条件>

細胞：Jurkat 細胞 (5 x 10⁵ cells)
 薬剤：Phloretin (終濃度：100 μmol/L)
 暴露時間：一晚
 測定サンプル：培養上清

<結果>

Phloretin 添加によりグルコースの取り込みが阻害されグルコース消費量が減少し、培地中のグルコース量は増加、乳酸量は減少する結果が得られました。



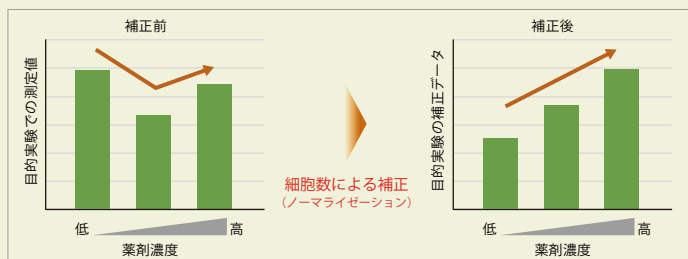
品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Glucose Assay Kit-WST	50 tests	¥ 18,000	342-09413	G264
	200 tests	¥ 38,000	346-09411	
Lactate Assay Kit-WST	50 tests	¥ 29,000	343-09281	L256
	200 tests	¥ 68,000	349-09283	

代謝キットとの併用でデータの信頼性を向上

Normalization 同仁 検索

細胞数ノーマライゼーションキット

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、細胞数のカウントやトータルタンパク質量の確認により、得られた測定値の補正（ノーマライゼーション）が必要となります。本キットでは、試薬を細胞培養液に添加するだけで、細胞内の核を染色し得られる蛍光強度から、細胞数を簡単に評価することができます。



試薬をウェルに加えるだけ

目的の実験
 ROS、細胞内代謝、オートファジー、細胞老化などマイクロプレートを使った評価

薬剤刺激など → プレートリーダー測定 (蛍光、吸光度)

本キットによるノーマライゼーション
 目的の実験で評価した細胞に試薬を加え、30分後に再びプレートリーダーで測定

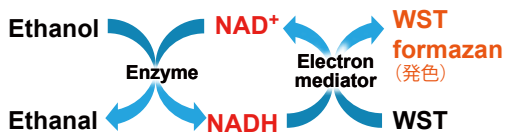
試薬追加 → 30分 → 蛍光測定

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	

NAD/NADH 測定キット

NAD/NADH Assay Kit-WST

NAD は、解糖系や電子伝達、TCA 回路など細胞内の主要な代謝経路における重要な補酵素です。細胞内において酸化型 NAD⁺ と還元型 NADH の量を適切な状態で維持することが細胞機能には必須となっています。また最近の研究では、NAD⁺ 量の低下と老化との関連についても報告されています。

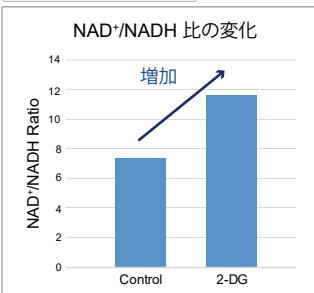


測定原理

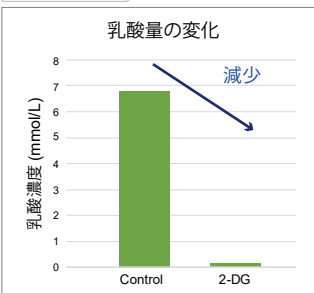
NAD/NADH と乳酸の測定例

2-Deoxy-D-glucose (2-DG) を HeLa 細胞に添加、培養後の上清を用いて Lactate Assay Kit-WST、培養上清除去後の細胞を用いて NAD/NADH Assay Kit-WST にて評価しました。

NAD/NADH 測定キット



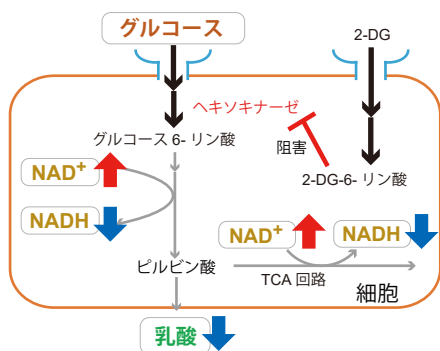
乳酸測定キット



<実験条件>

細胞：HeLa 細胞 (1 x 10⁶ cells)
薬剤：2-DG (終濃度：6 mmol/L)
暴露時間：24 時間

測定サンプル：培養上清 (乳酸測定)、細胞 (NAD/NADH 測定)



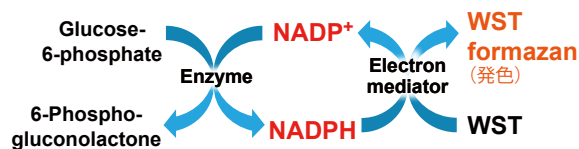
<結果>

2-DG 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。

NADP/NADPH 測定キット

NADP/NADPH Assay Kit-WST

NADP は主に、細胞内代謝経路の 1 つであるペントース・リン酸経路での反応に関与する補酵素です。細胞内において、酸化型 NADP⁺ と還元型 NADPH として存在し、脂肪酸やコレステロールの生合成や還元型グルタチオンの生成に関与しています。また最近の研究で、糖質制限による寿命延長に NADP⁺/NADPH が関連しているということが報告されています。

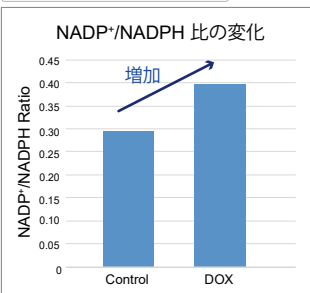


測定原理

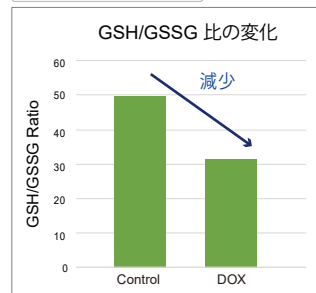
NADP/NADPH とグルタチオンの測定例

Doxorubicin (DOX) を Jurkat 細胞に添加し、NADP/NADPH Assay Kit-WST、GSSG/GSH Quantification Kit (製品コード：G257) にて評価しました。

NADP/NADPH 測定キット



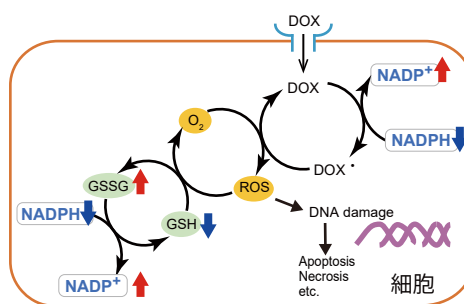
グルタチオン測定キット



<実験条件>

細胞：Jurkat 細胞 (3 x 10⁶ cells)
薬剤：Dox (終濃度：500 nmol/L)
暴露時間：24 時間

測定サンプル：細胞



<結果>

DOX を細胞に添加すると酵素反応により DOX ラジカルと共に NADP⁺ が生成される。DOX ラジカルは活性酸素種 (ROS) を生成し、DNA ダメージやアポトーシスを誘導する。その一方で発生した ROS を消去するため、還元型グルタチオン (GSH) が消費され酸化型グルタチオン (GSSG) が増加する。また、GSSG を GSH に還元するために NADPH が用いられ、NADP⁺ が増加する。今回得られたデータは、上記のような機構に基づくものと考えられます。

<参考文献は弊社 HP に掲載しています>

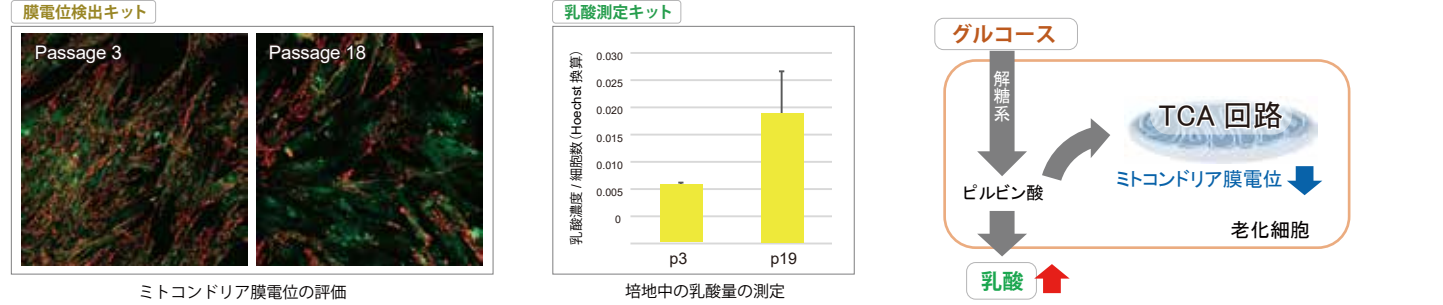
品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
NAD/NADH Assay Kit-WST	100 tests	¥ 54,000	347-09321	N509
NADP/NADPH Assay Kit-WST	100 tests	¥ 54,000	344-09331	N510



ミトコンドリア膜電位検出キット JC-1 MitoMP Detection Kit

代謝と連動したミトコンドリア膜電位の変化

継代数の異なる WI-38 細胞を用い、本キットによるミトコンドリア膜電位を評価(左図)、また Lactate Assay Kit-WST (製品コード:L256)による培地中の乳酸量の変化(中央図)を確認しました。結果、継代数を重ねた細胞では、JC-1 の赤色蛍光が減少(緑色蛍光が増大)しミトコンドリア膜電位の低下が確認され、一方で培地中の乳酸量は増大していることが確認されました。



品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
JC-1 MitoMP Detection Kit	1 set	¥ 23,000	349-09401	MT09

老化細胞検出キット

老化細胞のイメージングとプレートアッセイ

老化マーカーの1つとして最も広く評価されている SA-β-gal (senescence-associated β-galactosidase) を特異的に検出することができる2タイプのキットをご用意しました。老化細胞の評価方法に応じてお選びください。

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

蛍光顕微鏡、FCM※による高感度解析

- ・ X-gal では困難だった定量解析が容易に
- ・ 生細胞、固定化細胞の SA-β-gal 活性を検出

WI-38 細胞 (継代数 10)

WI-38 細胞

継代数 1 継代数 12 (老化細胞)

Number of Cells

Fluorescence intensity

緑色: 本キットによる SA-β-gal 染色
赤色: γ H2AX 染色
青色: DAPI による核染色

蛍光イメージング(多重染色)

フローサイトメトリー定量解析

老化細胞のモデルとして継代培養を繰り返した WI-38 細胞を用い解析。
※ FCM: フローサイトメトリー

Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal 新製品

プレートリーダーによる簡便な検出

- ・ 簡便な操作で SA-β-gal 活性を数値化
- ・ マイクロプレートによる多検体処理

細胞を洗浄し細胞溶解 → 試薬添加後 30分反応 → プレートリーダー → 反応停止後に蛍光測定

測定操作

プレートリーダー解析

Fluorescence Intensity

継代数	Fluorescence Intensity
継代数 3	~600
継代数 19	~1500

継代数の異なる WI-38 細胞を用い SA-β-gal 発現量の違いで数値化。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal	10 assays	¥ 38,000	347-09181	SG03
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal	20 tests	¥ 11,000	345-09501	SG05
	100 tests	¥ 32,000	341-09503	

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11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。

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)