

# 脂肪代謝

—総説—

## 脂肪滴と様々なオルガネラとの接触

宮崎大学 加藤 裕紀、西頭 英起

—注目の研究—

## 生細胞中の脂肪滴動態モニタリングを可能とする新規脂肪滴検出蛍光色素

株式会社同仁化学研究所 立中 佑希

新製品

脂肪滴染色蛍光試薬 P.7

老化細胞検出試薬 P.8

細胞数補正キット P.9

細胞内代謝測定キット P.10

細胞内鉄検出試薬 P.11

オートファジー検出試薬 P.12





表紙撮影：球磨郡あさぎり町 遠山桜  
photo：永島俊介氏

## CONTENTS

### Review

- 脂肪滴と様々なオルガネラとの接触 • [1]  
宮崎大学 加藤 裕紀、西頭 英起

### Topics on Chemistry

- 生細胞中の脂肪滴動態モニタリングを可能とする  
新規脂肪滴検出蛍光色素 • [6]  
株式会社同仁化学研究所 立中 佑希

### Commercial

- ミトコンドリア内鉄検出試薬 • [11]  
抗酸化能測定キット－SOD 様活性 • [13]  
血圧上昇抑制効果測定キット • [13]  
新製品  
  脂肪滴染色蛍光試薬 • [7]  
  老化細胞検出試薬 • [8]  
  細胞数補正キット • [9]  
  細胞内代謝測定キット • [10]  
  細胞内鉄検出試薬 • [11]  
  オートファジー検出試薬 • [12]  
3月22日発売予定  
  オートファジー検出試薬 (DAPRed-Autophagy Detection) • [12]  
  抗酸化能測定キット－DPPH ラジカル消去活性 • [13]

### お知らせ

- 近日出展予定の学会 • [5]

※希望納入価格には消費税等は含まれておりません。

## 脂肪滴と様々なオルガネラとの接触

Lipid droplets contact with various organelles



加藤 裕紀

富崎大学医学部機能生化学  
特任助教



西頭 英起

富崎大学医学部機能生化学  
教授

### Abstract

Lipid droplet is the important storage organelle responsible for lipid and energy homeostasis. Its structure is surrounded by the phospholipid monolayer containing specific proteins, and encloses neutral lipids. Lipid droplets formed from the endoplasmic reticulum associate with a various types of organelles via membrane contact sites. It is revealing that these contacts between lipid droplets and other organelles are quite dynamic and are contribute to the cycle of lipid droplet swelling and contraction. Synthesis and degradation of lipid droplets, as well as interactions with other organelles are closely related to the cellular metabolism and are also important for buffering lipid toxicity.

## 1. はじめに

脂肪酸などの脂質は、細胞膜およびシグナル伝達メディエーターの重要な構成要素であるとともに、エネルギー貯蔵の観点からも必須の分子である。長い間、脂肪の単なる細胞質内封入体と認識されてきた脂肪滴は、脂質およびエネルギー恒常性において重要な機能を持つオルガネラとして、近年特に注目されている<sup>1,2)</sup>。その脂肪滴は、様々なタンパク質を内包したリン脂質単分子層で囲まれた中性脂質からなる独特の微細構造を持つ。脂肪滴は、生合成による増大とリバーゼによる脂肪の分解消費、または選択的自食作用（リボファジー）を繰り返す極めて動的なオルガネラである。栄養過多な状態で貯蔵された脂質は、栄養飢餓時のエネルギー生産または膜形成におけるリン脂質合成のために動員される。また、脂質毒性を緩衝したり酸化ストレスからの防御においても重要な役割を担う。このような脂肪滴は、小胞体からその構成成分を供給されて生合成され、ミトコンドリア、ペルオキソソーム、リソソーム、核などほとんどのオルガネラと接触し、その相互作用によりお互いのオルガネラの機能を調節、維持している。本総説では、脂肪滴と他のオルガネラの接触およびそこで繰り広げられる物質の授受が、細胞の代謝に重要な役割を果たすことを紹介する。

## 2. 脂肪滴の形成

近年多くの研究により脂肪滴生合成のメカニズムが明らかにされつつあるが、未だ不明な点も多い。脂肪滴生合成の最初のステップは中性脂質（主にトリアシルグリセロール[TAG]とステロールエステル）の合成である。これらはそれぞれ、脂肪酸のジアシルグリセロールまたはステロール（コレステロールなど）へのエステル化から生じる。それぞれの段階には異なる酵素反応が関与しており、そのほとんどの酵素（コレステロール O- アシルトランスフェラーゼやジアシルグリセロールアシルトランスフェ

ラーゼなど）は小胞体に局在している（図 1）。これらの酵素によって合成された TAG が小胞体の脂質二重膜間に蓄積することで直径が 30 ~ 60 nm のレンズと呼ばれる脂肪滴の初期構造が形成される（図 1）<sup>3)</sup>。この中性脂質レンズが小胞体全体に形成されるのか、あるいは特定の部位だけで形成されるのかは不明である。近年、蛍光タンパク質を融合した TAG 合成酵素の遺伝子導入によ

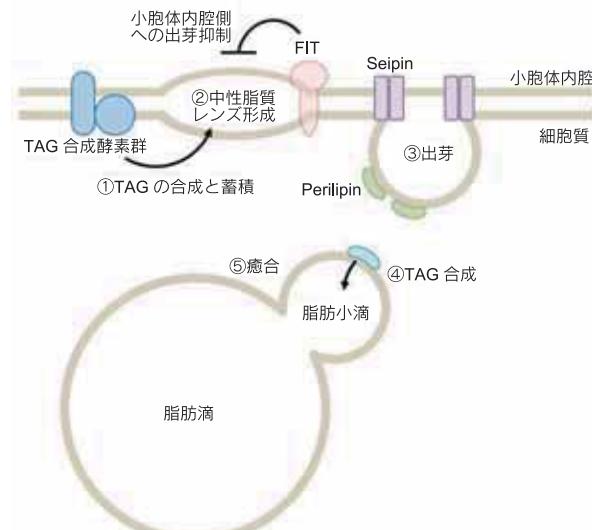


図 1. 脂肪滴の形成過程

①小胞体膜局在のトリアシルグリセロール (TAG) 合成酵素群により TAG が合成され、②脂質二重膜間に蓄積することで、中性脂質レンズが形成される。③小胞体膜分子の作用により細胞質側の一方向へ出芽し、④形成された脂肪小滴において引き続き TAG が合成される。⑤脂肪小滴が癒合することで、発達した脂肪滴が形成される。

り、生細胞でのレンズ形成のメカニズムを時空間的に解析することができ可能になった<sup>4)</sup>。拡大した中性脂質レンズは、COP II 小胞のように小胞体から被覆タンパク質によって出芽する（図 1）<sup>5)</sup>。一方 *in vitro* の実験では、内容物量の増大に伴う膜表面張力によって出芽可能であることも示されている<sup>6,7)</sup>。つまり、中性脂質を親水性の細胞環境に曝露することによる表面張力という物理的エネルギーが、球状の脂肪滴の出芽に重要であることを示唆する。生理的条件下で脂肪滴出芽の全てが細胞質側に向かって起こることは、小胞体内腔側と細胞質側の張力の不均衡が厳密に制御されていることを示す。実際、小胞体膜貫通型の fat storage-inducing transmembrane (FIT) タンパク質の欠損により、脂肪滴の出芽が抑制され、小胞体内腔側膜に埋め込まれた中性脂質レンズが蓄積する<sup>3)</sup>。また、Perilipin や Seipin の欠損細胞は、脂肪滴出芽の遅延を示すことから、これらの分子は脂肪滴形成に必須の分子と考えられるが<sup>4,8,9)</sup>、その詳細な分子メカニズムについては未解明な点も多い。

出芽後、脂肪小滴同士の融合、小胞体膜との架橋を介した脂肪小滴への TAG の転移、または直接脂肪小滴表面での TAG 合成により、脂肪滴は拡大する（図 1）。形成された脂肪滴は、不可逆的に独立しているわけではなく、COP I 被覆小胞複合体構成要素によって、小胞体膜と再接触（図 2）することが可能になるが、なぜ小胞体との特異的な接触が可能なのかについては不明である。網羅的解析により脂肪滴局在タンパク質群が同定され、複数の手法によって解析された共通の分子として、100～150 のタンパク質が構成因子であることが示されている<sup>10-14)</sup>。それらの中には、Perilipin タンパク質群の他にも、膜輸送やタンパク質分解のような脂肪滴とは一見無関係な機能を有するタンパク質も存在しており、このことは脂肪滴の多様な生理的機能を示唆する。これらの脂肪滴局在タンパク質には、小胞体膜から脂肪滴膜に移動するタイプ（クラス I）と細胞質から脂肪滴表面に動員されるタンパ

ク質（クラス II）に分類される。多数のタンパク質群がどのようにして脂肪滴に運ばれ、その挙動および機能に影響するかについては、今後の解析が必要である。

### 3. 脂肪滴との膜接触

生合成中に形成される小胞体との膜架橋に加えて、脂肪滴は殆どの種類のオルガネラと会合する（図 2）。近年の革新的な顕微鏡技術と蛍光プローブの開発により、マルチ蛍光イメージングを用いたオルガネラ間接触に関する画期的な研究結果が報告された<sup>15)</sup>。6 種類のオルガネラを同時に時空間的に観察することで、一つの脂肪滴は小胞体、ゴルジ体、ミトコンドリア、リソソーム、ペルオキシソームとの間に複数のオルガネラと接触し、その接触面は特徴的かつ動的な分布を示すことが示された。これらの接触は、脂質、代謝産物およびイオンの交換やオルガネラの分裂と輸送に不可欠である<sup>15-17)</sup>。しかし、脂肪滴-オルガネラ接触部位について、架橋複合体を形成する分子の正体、それらの調節機構と機能については未解明な部分が多く残されており、現在の細胞生物学研究におけるホットトピックスの一つといえる。

### 4. 脂肪滴-小胞体間接触

酵母では、脂肪滴は小胞体膜と連続したままで、細胞質へ遊離しない<sup>18)</sup>。一方、哺乳類細胞においては、一旦分離するにもかかわらず、約 85% もの脂肪滴が小胞体と再接触する（図 2、図 3A）<sup>15)</sup>。また、がん細胞の電子顕微鏡トモグラフィー解析では、ほとんどの脂肪滴が小胞体と複数の接触面を有することが示されている<sup>19)</sup>。ヒト細胞における BSCL2 遺伝子 (Seipin) の欠失は、脂肪滴-小胞体間の接触を阻害し、多くの脂肪滴が小胞体から完全に分離する。しかし、別の研究では脂肪滴-小胞体接触において Seipin 以外の分子の関与も示唆されている<sup>4)</sup>。他の架橋分子として、DGAT2、Ice2、RAB18 および SNARE タンパク質 (Syntaxin

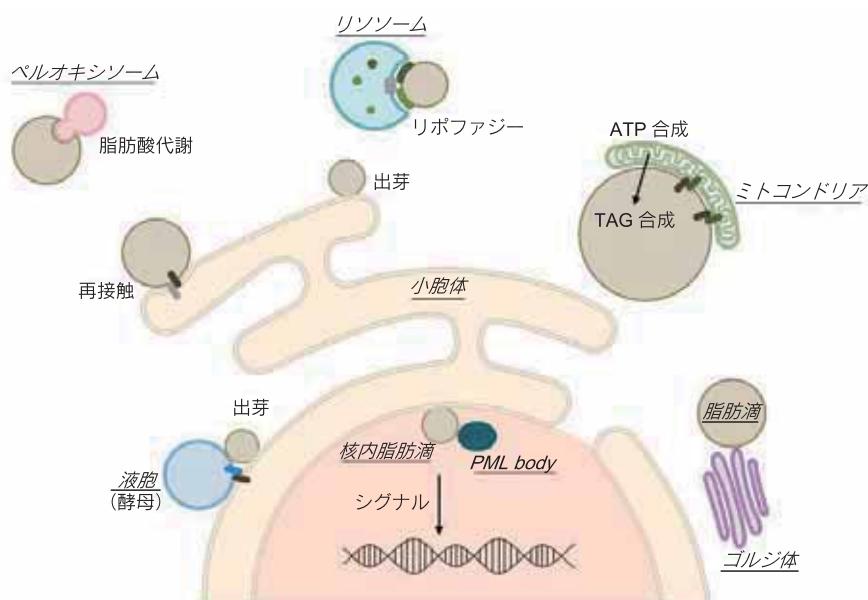


図 2. 様々なオルガネラと脂肪滴の接触

脂肪滴は、小胞体、ミトコンドリア、ゴルジ体、ペルオキシソーム、リソソーム、液胞（酵母）に接触する。それぞれの接触には、特異的な架橋分子が関与すると考えられる。

18、USE1、BNIP1) などが報告されている<sup>20-22)</sup>。しかし、これらはいずれもその欠失細胞で必ずしも脂肪滴の架橋が消失するわけではないことから、脂肪滴-小胞体接触の分子メカニズムは、細胞の種類と環境に依存すると考えられ今後の詳細な解析が待たれる。

## 5. 脂肪滴と核膜接触

脂肪滴は、小胞体膜から出芽して細胞質側に形成されるが、小胞体膜から繋がる核の内膜から脂肪滴が合成されることはないと考えられてきた。しかし、出芽酵母を用いた実験から、核の内膜と外膜の脂質組成が異なること、さらに脂質合成を担う酵素が核内膜にも存在することが示された。このことは、これまで内膜の脂質は小胞体から繋がる外膜から受動的に送り込まれるものと予想されていた説を覆すものである。更に、特殊な検出方法により、核の内膜と外膜を分離して蛍光イメージングすることで、内膜から脂肪滴が放出されることが示された<sup>23)</sup>。この核内脂肪滴は、遺伝子発現を介して脂質代謝を担う(図2)。これらの研究は、核の内膜にも脂肪滴を合成する能力が備わっていることを明確に証明しているが、出芽酵母の遺伝子変異体を用いた特殊な状況での表現型であることから、より生理的条件での解析が期待される。一方、哺乳類では、肝細胞の核内に脂肪滴が存在することがすでに示されており、この核内脂肪滴はPML bodyと接触することで脂肪酸エステルを合成することに寄与している(図2)<sup>24)</sup>。

## 6. 脂肪滴-ミトコンドリア接触

栄養不足の条件下では、脂肪分解またはリポファジーによって脂肪滴から放出された脂肪酸が、β酸化およびクエン酸サイクルによるエネルギー产生のためにミトコンドリアによって消費される。これらの脂肪酸の授受は、脂質毒性軽減の観点から、おそらく膜接触部位で起こると予想される。この仮説を支持する実験結果として、脂肪滴-ミトコンドリア接触は、培養細胞の栄養不足や骨格筋運動によるエネルギー消費によって増加する<sup>15,25-28)</sup>。この両オルガネラ膜の空間的近接によって、細胞質に遊離脂肪酸を放出することを防ぎ、脂肪毒性あるいは予期せぬ脂質シグナル伝達を防止することが可能になる<sup>23,26)</sup>。一方、褐色脂肪細胞では、脂肪滴に接触するミトコンドリアと遊離型のミトコンドリアを比較

することで、上記と反対の現象も報告されている。すなわち、脂肪滴接触型ミトコンドリアはβ酸化を減少させ、反対にATP合成を増大させ、TAG合成に必要な局所的脂肪酸活性化のためにATPを供給する。これによって、接触型ミトコンドリアは脂肪滴の合成を促す<sup>29)</sup>。この脂肪滴接触型ミトコンドリアは著しく伸長していることから(図2、図3B)、脂肪滴接触面には、ミトコンドリアの分裂/融合ダイナミクスを制御する分子機構が備わっていると考えられる。このような接触面形成の分子機構として、PLIN5(Perilipinファミリー)の過剰発現がミトコンドリアを劇的に脂肪滴周辺に動員することから、両オルガネラ間の架橋分子の一つと考えられる<sup>29,30)</sup>。褐色脂肪細胞では、PLIN1とmitofusin2(Mfn2)の結合も両オルガネラ架橋に関係するが<sup>31)</sup>、Mfn2はミトコンドリアの融合に必須の分子であるため、Mfn2欠損細胞における脂肪滴-ミトコンドリア接触の減少は、ミトコンドリアダイナミクスの変化による可能性も否定できない。

## 7. 脂肪滴-ペルオキシソーム接触

脂肪滴と同様に、ペルオキシソームは脂質およびエネルギー代謝において中心的な役割を果たす。酵母のペルオキシソームは脂肪酸β酸化の唯一の場であり、ヒトではほとんどのβ酸化がミトコンドリアで起こるが、ペルオキシソームは超長鎖脂肪酸と分岐脂肪酸のβ酸化に必須のオルガネラである。このように、β酸化に不可欠なペルオキシソームを機能阻害させたマウスでは、肝臓に肥大した脂肪滴が蓄積する<sup>32)</sup>。ペルオキシソームが脂肪滴と接触することは脂肪酸代謝の観点から合理的であるが、その分子メカニズムは不明である<sup>15)</sup>。炭素飢餓に曝された酵母では、ペルオキシソームが脂肪滴との接触を増大させ、pexopodiaと呼ばれる突起を脂肪滴内へと浸潤させ、脂肪滴膜はペルオキシソーム脂質二重膜の外側リン脂質と融合する(図2)。これにより、ペルオキシソームに局在する酵素が脂肪滴に貯蔵されているTAGに直接作用するか、またはタンパク質輸送を促進することを可能にしていると考えられる<sup>32)</sup>。

## 8. 脂肪滴-リソソーム(液胞)接触

哺乳類細胞のリソソームも脂肪滴と相互作用する<sup>15,33,34)</sup>。この両オルガネラ接触を介して、脂肪滴膜表面タンパク質はオート

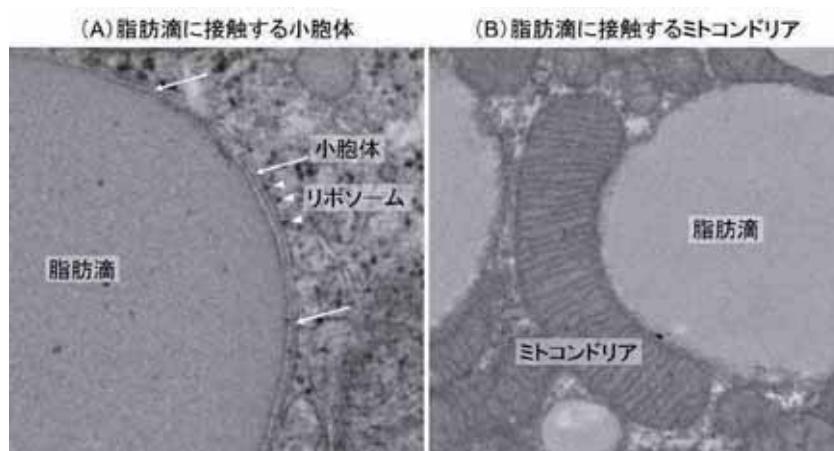


図3. 褐色脂肪細胞の電子顕微鏡像

A 脂肪滴と粗面小胞体の接触面には、リボソーム(白三角)が介在しない。  
B 脂肪滴に接触するミトコンドリアの一部は長くなり、クリステ構造が発達している。

ファジーの一種であるシャペロン媒介性オートファジーにより分解される(図2)<sup>33)</sup>。シャペロン媒介性オートファジーでは、heat shock cognate 71 kDa protein(HSC70)によって認識される特殊なアミノ酸配列を持つ基質は、リソソーム表面に搬送され、Receptor lysosome-associated membrane protein 2a(LAMP2a)を介してリソソームの内腔に転移され分解される<sup>8)</sup>。興味深いことに、LAMP2a欠損マウスは脂肪肝を示し、LAMP2a欠損線維芽細胞は、脂肪滴の増加およびTAG含有量の増加と脂肪酸酸化の減少を示す<sup>33,35)</sup>。すなわち、LAMP2aは中性脂質代謝を制御する。PLIN2およびPLIN3はHSC70認識配列を持ち、低栄養環境に反応してHSC70と結合し、シャペロン媒介性オートファジーにより分解される<sup>33,36)</sup>。シャペロン媒介性オートファジーを欠失した細胞でのPLIN2の蓄積は、脂肪分解とリポファジーによる脂肪酸代謝を減少させる<sup>33)</sup>。このような報告から、シャペロン媒介性オートファジーとPLIN2およびPLIN3との直接的相互作用が、脂肪滴-リソソーム接触の形成に寄与しており(図2)、これが脂肪滴の代謝を制御していると考えられる。脂肪滴へのリソソームの動員は、リポファジーに関与するRab7(GTPase)によっても調節されているが<sup>34)</sup>、Rab7がシャペロン媒介性オートファジーにおいて機能するかどうかは、今後の解析を必要とする。

酵母では、液胞が後生動物のリソソームに相当する。脂肪滴は、増殖条件下では酵母細胞全体に小胞体に沿って形成され、飢餓時には核周囲小胞体-液胞接触部の周囲に出芽により生合成される(図2)<sup>37)</sup>。核周囲小胞体-液胞接触膜の小胞体側の架橋分子Mdm1は、脂肪滴生合成において特に重要な役割を持ち、その過剰発現は脂肪滴生合成を促進する<sup>37)</sup>。哺乳類のMdm1オルソログのSNX14は、小胞体局在タンパク質であることから<sup>38)</sup>、Mdm1(SNX14)は、脂肪滴-液胞-小胞体の3オルガネラ接触に関与することが推察される。さらに、Lipid droplet organization protein of 16 kDa protein(Ldo16)とLdo45はSeipinに結合し、核周囲小胞体-液胞間での脂肪滴生合成に関与する<sup>39,40)</sup>。しかし、Ldo16、Ldo45が脂肪滴との架橋分子として機能するかは不明である。酵母の培養条件によって核周囲小胞体、液胞と脂肪滴の3オルガネラの接触形態は異なるが、いずれにしても液胞-脂肪滴間の接触は酵母における脂質代謝の中心的役割を担う場であるといえる。

## 9. これからの展望

脂肪滴は、近年とくに注目を集めるオルガネラであり、脂質代謝においてのみならず様々な分野で重要な知見が次々と報告されている。その生合成過程および他のオルガネラとの接触のメカニズムについては、未だ不明な点が多く残されているが、脂肪滴の生合成に必要な分子が遺伝学的研究を中心に同定され、今後様々な生物種や環境条件下での解析が期待される。超解像顕微鏡の革新的発達に伴い、脂肪滴と他のオルガネラ接触部位に関する時空間的な解析が進みつつあり、その生理的意義についても今後明らかになるであろう。一方で、現在のイメージングは、オルガネラ局在タンパク質に比較的大きな蛍光タンパク質を融合した外来性タンパク質発現に依存するため、必ずしも生理的条件を担保しているとは言えない。その点で、近年急速に開発が進みつつある低分子オルガネラプローブは、内在性タンパク質の発現バランスを変えることなく解析が可能であり、その進化が大いに期待される。超解像顕微鏡とオルガネラ検出プローブの飛躍的進歩により、脂肪滴の形成および動態を制御するメカニズムの詳細な理解が進み、最終的には代謝性疾患の分子メカニズムの理解に繋がるであろう。

## [参考文献]

- R. V. Farese, Jr. and T. C. Walther, Lipid droplets finally get a little R-E-S-P-E-C-T, *Cell*, **2009**, *139*, 855-860.
- J. A. Olzmann and P. Carvalho, Dynamics and functions of lipid droplets, *Nature reviews Molecular cell biology*, **2018**.
- V. Choudhary, N. Ojha, A. Golden and W. A. Prinz, A conserved family of proteins facilitates nascent lipid droplet budding from the ER, *J. Cell Biol.*, **2015**, *211*, 261-271.
- H. Wang, M. Becuwe, B. E. Housden, C. Chitraju, A. J. Porras, M. M. Graham, X. N. Liu, A. R. Thiam, D. B. Savage, A. K. Agarwal, A. Garg, M. J. Olarte, Q. Lin, F. Frohlich, H. K. Hannibal-Bach, S. Upadhyayula, N. Perrimon, T. Kirchhausen, C. S. Eising, T. C. Walther and R. V. Farese, Seipin is required for converting nascent to mature lipid droplets, *Elife*, **2016**, 5.
- N. Gomez-Navarro and E. A. Miller, COP-coated vesicles, *Curr. Biol.*, **2016**, *26*, R54-R57.
- K. Ben M'barek, D. Ajajai, A. Chorlay, S. Vanni, L. Foret and A. R. Thiam, ER Membrane Phospholipids and Surface Tension Control Cellular Lipid Droplet Formation, *Dev. Cell*, **2017**, *41*, 591-604 e597.
- A. R. Thiam and L. Foret, The physics of lipid droplet nucleation, growth and budding, *Biochim. Biophys. Acta.*, **2016**, *1861*, 715-722.
- B. R. Cartwright, D. D. Binns, C. L. Hilton, S. Han, Q. Gao and J. M. Goodman, Seipin performs dissectionable functions in promoting lipid droplet biogenesis and regulating droplet morphology, *Mol. Biol. Cell*, **2015**, *26*, 726-739.
- Q. Gao, D. D. Binns, L. N. Kinch, N. V. Grishin, N. Ortiz, X. Chen and J. M. Goodman, Pet10p is a yeast perilipin that stabilizes lipid droplets and promotes their assembly, *J. Cell Biol.*, **2017**, *216*, 3199-3217.
- D. L. Brasaemle, G. Dolios, L. Shapiro and R. Wang, Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically stimulated 3T3-L1 adipocytes, *J. Biol. Chem.*, **2004**, *279*, 46835-46842.
- P. Liu, Y. Ying, Y. Zhao, D. I. Mundy, M. Zhu and R. G. Anderson, Chinese hamster ovary K2 cell lipid droplets appear to be metabolic organelles involved in membrane traffic, *J. Biol. Chem.*, **2004**, *279*, 3787-3792.
- N. Krahmer, M. Hilger, N. Kory, F. Wilfling, G. Stoehr, M. Mann, R. V. Farese, Jr. and T. C. Walther, Protein correlation profiles identify lipid droplet proteins with high confidence, *Mol. Cell Proteomics*, **2013**, *12*, 1115-1126.
- K. Bersuker and J. A. Olzmann, Establishing the lipid droplet proteome: Mechanisms of lipid droplet protein targeting and degradation, *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell Biol. Lipids*, **2017**, *1862*, 1166-1177.
- K. Bersuker, C. W. H. Peterson, M. To, S. J. Sahl, V. Savikhin, E. A. Grossman, D. K. Nomura and J. A. Olzmann, A Proximity Labeling Strategy Provides Insights into the Composition and Dynamics of Lipid Droplet Proteomes, *Dev. Cell*, **2018**, *44*, 97-112 e117.
- A. M. Valm, S. Cohen, W. R. Legant, J. Melunis, U. Hershberg, E. Wait, A. R. Cohen, M. W. Davidson, E. Betzig and J. Lippincott-Schwartz, Applying systems-level spectral imaging and analysis to reveal the organelle interactome, *Nature*, **2017**, *546*, 162-167.
- W. A. Prinz, Bridging the gap: membrane contact sites in signaling, metabolism, and organelle dynamics, *J. Cell Biol.*, **2014**, *205*, 759-769.
- N. Shai, E. Yifrach, C. W. T. van Roermund, N. Cohen, C. Bibi, I. J. Lodewijk, L. Cavellini, J. Meurisse, R. Schuster, L. Zada, M. C. Mari, F. M. Reggiori, A. L. Hughes, M. Escobar-Henriques, M. M. Cohen, H. R. Waterham, R. J. A. Wanders, M. Schuldiner and E. Zalckvar, Systematic mapping of contact sites reveals tethers and a function for the peroxisome-mitochondria contact, *Nat. Commun.*, **2018**, *9*, 1761.
- N. Jacquier, V. Choudhary, M. Mari, A. Toulmay, F. Reggiori and R. Schneiter, Lipid droplets are functionally connected to the endoplasmic reticulum in *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Cell Sci.*, **2011**, *124*, 2424-2437.
- V. T. Salo, I. Belevich, S. Li, L. Karhinen, H. Vihtinen, C. Vigouroux, J. Magre, C. Thiele, M. Holtta-Vuori, E. Jokitalo and E. Ikonen, Seipin

- regulates ER-lipid droplet contacts and cargo delivery, *EMBO J.*, **2016**, 35, 2699-2716.
- 20) N. Xu, S. O. Zhang, R. A. Cole, S. A. McKinney, F. Guo, J. T. Haas, S. Bobba, R. V. Farese, Jr. and H. Y. Mak, The FATP1-DGAT2 complex facilitates lipid droplet expansion at the ER-lipid droplet interface, *J. Cell Biol.*, **2012**, 198, 895-911.
- 21) D. Xu, Y. Li, L. Wu, Y. Li, D. Zhao, J. Yu, T. Huang, C. Ferguson, R. G. Parton, H. Yang and P. Li, Rab18 promotes lipid droplet (LD) growth by tethering the ER to LDs through SNARE and NRZ interactions, *J. Cell Biol.*, **2018**, 217, 975-995.
- 22) D. F. Markgraf, R. W. Klemm, M. Junker, H. K. Hannibal-Bach, C. S. Ejsing and T. A. Rapoport, An ER protein functionally couples neutral lipid metabolism on lipid droplets to membrane lipid synthesis in the ER, *Cell Rep.*, **2014**, 6, 44-55.
- 23) A. Romanauska and A. Kohler, The Inner Nuclear Membrane Is a Metabolically Active Territory that Generates Nuclear Lipid Droplets, *Cell*, **2018**, 174, 700-715 e718.
- 24) Y. Ohsaki, T. Kawai, Y. Yoshikawa, J. Cheng, E. Jokitalo and T. Fujimoto, PML isoform II plays a critical role in nuclear lipid droplet formation, *J. Cell Biol.*, **2016**, 212, 29-38.
- 25) A. S. Rambold, S. Cohen and J. Lippincott-Schwartz, Fatty acid trafficking in starved cells: regulation by lipid droplet lipolysis, autophagy, and mitochondrial fusion dynamics, *Dev. Cell*, **2015**, 32, 678-692.
- 26) T. B. Nguyen, S. M. Louie, J. R. Daniele, Q. Tran, A. Dillin, R. Zoncu, D. K. Nomura and J. A. Olzmann, DGAT1-Dependent Lipid Droplet Biogenesis Protects Mitochondrial Function during Starvation-Induced Autophagy, *Dev. Cell*, **2017**, 42, 9-21 e25.
- 27) A. Herms, M. Bosch, B. J. Reddy, N. L. Schieber, A. Fajardo, C. Ruperez, A. Fernandez-Vidal, C. Ferguson, C. Rentero, F. Tebar, C. Enrich, R. G. Parton, S. P. Gross and A. Pol, AMPK activation promotes lipid droplet dispersion on detyrosinated microtubules to increase mitochondrial fatty acid oxidation, *Nat. Commun.*, **2015**, 6, 7176.
- 28) M. A. Tarnopolsky, C. D. Rennie, H. A. Robertshaw, S. N. Fedak-Tarnopolsky, M. C. Devries and M. J. Hamadeh, Influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and mitochondrial enzyme activity, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **2007**, 292, R1271-1278.
- 29) I. Y. Benador, M. Veliova, K. Mahdaviani, A. Petcherski, J. D. Wikstrom, E. A. Assali, R. Acin-Perez, M. Shum, M. F. Oliveira, S. Cinti, C. Sztalryd, W. D. Barshop, J. A. Wohlschlegel, B. E. Corkey, M. Liesa and O. S. Shirihai, Mitochondria bound to lipid droplets have unique bioenergetics, composition, and dynamics that support lipid droplet expansion, *Cell Metab.*, **2018**, 27, 869-885 e866.
- 30) H. Wang, U. Sreenivasan, H. Hu, A. Saladino, B. M. Polster, L. M. Lund, D. W. Gong, W. C. Stanley and C. Sztalryd, Perilipin 5, a lipid droplet-associated protein, provides physical and metabolic linkage to mitochondria, *J. Lipid. Res.*, **2011**, 52, 2159-2168.
- 31) M. Boutant, S. S. Kulkarni, M. Joffraud, J. Ratajczak, M. Valera-Alberni, R. Combe, A. Zorzano and C. Canto, Mfn2 is critical for brown adipose tissue thermogenic function, *EMBO J.*, **2017**, 36, 1543-1558.
- 32) R. Dirkx, I. Vanhorebeek, K. Martens, A. Schad, M. Grabenbauer, D. Fahimi, P. Declercq, P. P. Van Veldhoven and M. Baes, Absence of peroxisomes in mouse hepatocytes causes mitochondrial and ER abnormalities, *Hepatology*, **2005**, 41, 868-878.
- 33) S. Kaushik and A. M. Cuervo, Degradation of lipid droplet-associated proteins by chaperone-mediated autophagy facilitates lipolysis, *Nat. Cell Biol.*, **2015**, 17, 759-770.
- 34) B. Schroeder, R. J. Schulze, S. G. Weller, A. C. Sletten, C. A. Casey and M. A. McNiven, The small GTPase Rab7 as a central regulator of hepatocellular lipophagy, *Hepatology*, **2015**, 61, 1896-1907.
- 35) J. L. Schneider, Y. Suh, A. M. Cuervo, Deficient chaperone-mediated autophagy in liver leads to metabolic dysregulation, *Cell Metab.*, **2014**, 20, 417-432.
- 36) S. Kaushik and A. M. Cuervo, AMPK-dependent phosphorylation of lipid droplet protein PLIN2 triggers its degradation by CMA, *Autophagy*, **2016**, 12, 432-438.
- 37) H. Hariri, S. Rogers, R. Urankar, Y. L. Liu, J. R. Feathers and W. M. Henne, Lipid droplet biogenesis is spatially coordinated at ER-vacuole contacts under nutritional stress, *EMBO Rep.*, **2018**, 19, 57-72.
- 38) D. Bryant, Y. Liu, S. Datta, H. Hariri, M. Seda, G. Anderson, E. Peskett, C. Demetriou, S. Sousa, D. Jenkins, P. Clayton, M. Bitner-Glindzic, G. E. Moore, W. M. Henne and P. Stanier, SNX14 mutations affect endoplasmic reticulum-associated neutral lipid metabolism in autosomal recessive spinocerebellar atrophy 20, *Hum. Mol. Genet.*, **2018**, 27, 1927-1940.
- 39) M. Eisenberg-Bord, M. Mari, U. Weill, E. Rosenfeld-Gur, O. Moldavski, I. G. Castro, K. G. Soni, N. Harpaz, T. P. Levine, A. H. Futerman, F. Reggiori, V. A. Bankaitis, M. Schuldiner and M. Bohnert, Identification of seipin-linked factors that act as determinants of a lipid droplet subpopulation, *J. Cell Biol.*, **2018**, 217, 269-282.
- 40) V. Teixeira, L. Johnsen, F. Martinez-Montanes, A. Grippa, L. Buxo, F. Z. Idrissi, C. S. Ejsing and P. Carvalho, Regulation of lipid droplets by metabolically controlled Ldo isoforms, *J. Cell Biol.*, **2018**, 217, 127-138.

## [著者プロフィール]

氏名：加藤 裕紀 (Hironori Kato)

所属：宮崎大学 医学部 機能生化学

〒 889-1601 宮崎市清武町木原 5200

TEL : 0985-85-3127

E-mail : hkato@med.miyazaki-u.ac.jp

出身学校：山梨大学大学院医学工学総合教育部

学位：博士（医科学）

専門分野：細胞生物学、オルガネラ、ストレス応答

氏名：西頭 英起 (Hideki Nishitoh)

所属：宮崎大学 医学部 機能生化学

〒 889-1601 宮崎市清武町木原 5200

TEL : 0985-85-3127

E-mail : nishitoh@med.miyazaki-u.ac.jp

出身学校：東京医科歯科大学大学院歯学研究科

学位：博士（歯学）

専門分野：細胞生物学、オルガネラ品質管理

## 近日出展予定の学会

## 日本農芸化学会 2019

期日：2019年3月24日（日）～27日（水）

会場：東京農業大学 世田谷キャンパス

## 第9回アジア・オセアニア生理学会

期日：2019年3月28日（木）～31日（日）

会場：神戸国際会議場、神戸国際展示場

※ランチョンセミナーを実施します。

展示ブースにてお待ちしています。

本学会展示に関する詳細は後日小社 HP にてご案内いたします。

# Topics on Chemistry

## 生細胞中の脂肪滴動態モニタリングを可能とする新規脂肪滴検出蛍光色素

株式会社同仁化学研究所 立中 佑希

脂肪滴は、トリグリセリドやステロールエステルなどの中性脂肪が、リン脂質一重膜で取り囲まれた構造をしており、脂肪細胞だけでなくバクテリアから哺乳動物細胞まで、ほとんどの細胞に見られる。脂肪滴の役割は、単純に過剰な脂質の貯蔵庫と考えられてきたが、現在では膜形成、リボタンパク質形成や細胞内シグナル伝達といった重要な役割を果たすオルガネラでもあると認識されている。近年、脂肪滴とオートファジー（リポファジー）、細胞老化との関連性も示唆されており、脂肪滴の形成、成長、融合、分解などの機構の解明が待ち望まれている。筆者らは、低分子蛍光色素を用いて脂肪滴と他のオルガネラとの形態学的および動的相互作用を簡便に検出できる技術の開発を進めてきた。本稿では、新たに開発した低分子蛍光色素を用いた脂肪滴動態のモニタリングについて紹介する<sup>1)</sup>。

脂肪滴の様々な機能を解析するためには、蛍光顕微鏡によるマルチカラー解析が不可欠である。従来、生細胞中の脂肪滴動態を観察するために、Nile Red や BODIPY 493/503 といった蛍光色素が使用されてきた。しかし、Nile Red の励起波長はソルバトクロミズムによって 450 nm から 560 nm に大幅にシフトするため、B 励起（470-490 nm）および G 励起（520-550 nm）フィルターでのマルチカラー解析は難しい。また、これらの色素は細胞内のバックグラウンド蛍光が高いといった課題があり、解析の妨げになる。ここで報告する蛍光色素 Lipi-Blue、Lipi-Green および Lipi-Red（以下、Lipi シリーズ）は、脂肪滴に対して特異的であり、染色された細胞の蛍光バックグラウンドは極めて低い。また、Lipi シリーズの蛍光特性は、蛍光顕微鏡の一般的なフィルターセットに対応しており、マルチカラー解析に有用である。さらに、Lipi-Blue と Lipi-Green は細胞内滞留性にも優れており、48 時間の長時間培養においてもイメージング可能である。

我々は、Lipi シリーズのこれら優れた性質を利用して、脂肪滴動態のモニタリングを試みた。Lipi-Blue と Lipi-Green を用いて時間差で染色した結果（Time-lag staining）、培養前後で新たに生じた脂肪滴を判別することができた。また、KB (HeLa 汚染株) 細胞を Lipi-Blue と Lipi-Green でそれぞれ別々に染色し、トリプシン処理で細胞を剥離後 48 時間共培養した結果、同一細胞内に Lipi-Blue と Lipi-Green で染色された脂肪滴が観察された（図 1）。これは、Collot らの報告と合致している<sup>2)</sup>。一部の細胞で纖維状の長い突起が確認され、Tunneling nanotubes を経由した細胞間の脂肪滴輸送が示唆された<sup>3)</sup>。一方で、HepG2（ヒト肝癌由来）細胞を用いて同様の実験を行うと細胞間の脂肪滴輸送は観察されなかつた（図 2）。特定の条件の下、脂肪滴の細胞間移動は細胞の生存やコミュニケーションのための重要な機構である可能性がある。

脂肪滴形成を理解することは、肥満、脂肪肝、糖尿病といった病態の解明に重要であり、このメカニズムが明らかになれば、診断、治療、創薬に役立つであろう。本ツールを用いた詳細な脂肪滴動態の観察により、今後の新たな研究展開が期待される。

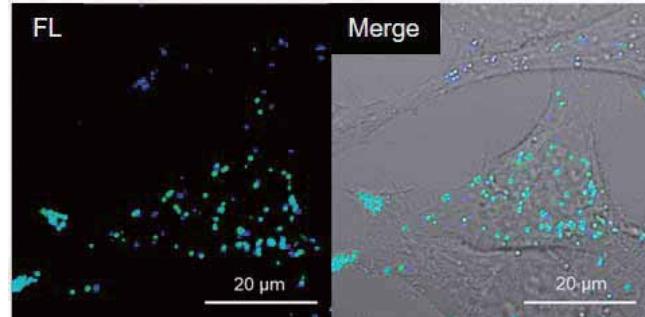


図 1 細胞間で脂肪滴の移動が観察された KB 細胞

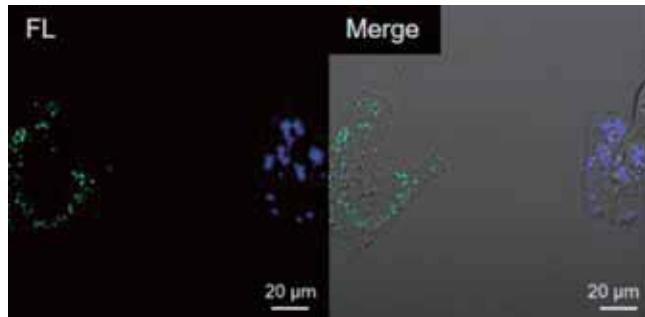


図 2 細胞間で脂肪滴の移動がなかつた HepG2 細胞

### [参考文献]

- 1) Y. Tatenaka, H. Kato, M. Ishiyama, K. Sasamoto, M. Shiga, H. Nishitoh and Y. Ueno, "Monitoring lipid droplet dynamics in living cells by using fluorescent probes", *Biochemistry* (in press).
- 2) M. Collot, T. K. Fam, P. Ashokkumar, O. Faklaris, T. Galli, L. Danglot and A. S. Klymenko, "Ultrabright and fluorogenic probes for multicolor imaging and tracking of lipid droplets in cells and tissues", *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140, 5401-5411.
- 3) K. Astanina, M. Koch, C. Jungst, A. Zumbusch and A. Kiemer, "Lipid droplets as a novel cargo of tunneling nanotubes in endothelial cells", *Scientific Reports*, **2015**, 5, 11453.

## 新製品

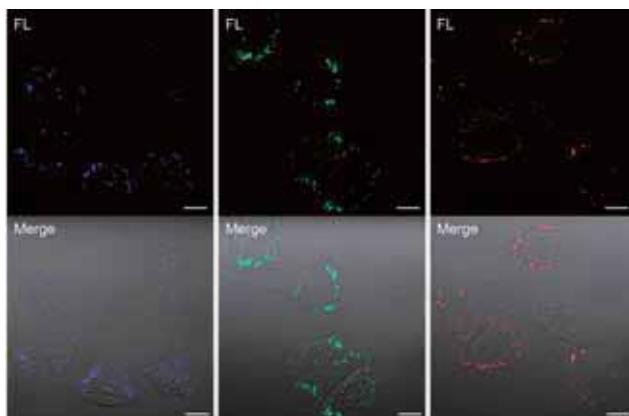
### 脂肪滴染色蛍光試薬

#### Lipi シリーズ (Blue, Green, Red)

Lipi シリーズは、脂肪親和性の高い低分子蛍光試薬であり、疎水性環境下で蛍光が増強します。そのため、試薬を添加するだけで生細胞および固定化細胞中の脂肪滴を明瞭に観察することができます。

#### <脂肪滴の染色例>

HeLa 細胞にオレイン酸を添加し脂肪滴を形成させ、Lipi シリーズの各色素にて染色しました。



#### <染色条件>

HeLa 細胞の培養液中に 200  $\mu\text{mol/L}$  オレイン酸を添加、一晩培養後に細胞を PBS で洗浄し Lipi-Blue : 0.1  $\mu\text{mol/L}$ , Lipi-Green : 0.1  $\mu\text{mol/L}$ , Lipi-Red : 1  $\mu\text{mol/L}$  にて 30 分間染色し観察。

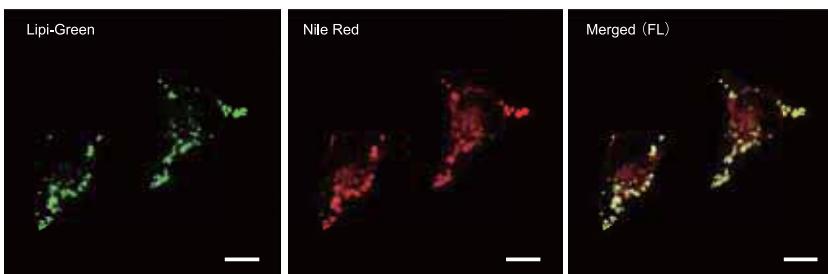
#### <検出条件>

Lipi-Blue : Ex 405 nm / Em 450-500 nm  
Lipi-Green : Ex 488 nm / Em 500-550 nm  
Lipi-Red : Ex. 561 nm / Em 565-650 nm  
スケールバー : 20  $\mu\text{m}$

#### <脂肪滴への高い選択性>

オレイン酸を添加した HeLa 細胞を Lipi-Green および Nile Red にてライブイメージングしました。

その結果、Lipi-Green と Nile Red で相関する局在（黄色）はみられたものの、Nile Red では脂肪滴以外の細胞質も染色されました。



#### <染色条件>

オレイン酸を添加した HeLa 細胞を 100 nmol/L Lipi-Green および 100 nmol/L Nile Red にて染色。

#### <検出条件>

Lipi-Green : Ex 488nm / Em 500-550 nm  
Nile Red : Ex 561 nm / Em 565-650 nm  
スケールバー : 20  $\mu\text{m}$

#### <市販試薬との性能比較>

Lipi シリーズでは、既存の脂肪滴染色試薬の課題（選択性、フィルター適応性、滞留性）を大幅に改善しました。また色素ラインナップにより、多重染色時の色素選択が容易に行えるようになりました。

	同仁化学製品			市販品 (T 社)		
	Lipi-Blue	Lipi-Green	Lipi-Red	Oil Red O(比色)	Nile Red	試薬 B
生細胞の染色	○	○	○	×	○	○
固定化細胞の染色	○	○	○	○	○	○
脂肪滴への選択性 (低バッケグラウンド)	○	○	○	×	×	△
他色素との共染色 * 1	○	○	○ * <sup>2</sup>	n/d	× * <sup>3</sup>	○
生細胞内での滞留性	○	○	×	n/d	×	×
品名						
容量 希望納入価格(¥) メーカーコード						
Lipi-Blue	10 nmol	18,000	LD01			
Lipi-Green	10 nmol	18,000	LD02			
Lipi-Red	100 nmol	18,000	LD03			

\* 35 mm dish : 10 ~ 50 枚分

本製品の測定原理と使用例を示した論文が公開されました。  
詳細は小社 HP よりご覧いただけます。

脂肪滴 同仁

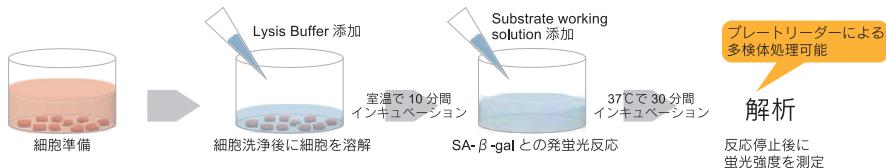
検索

## 新製品

### 老化細胞検出試薬

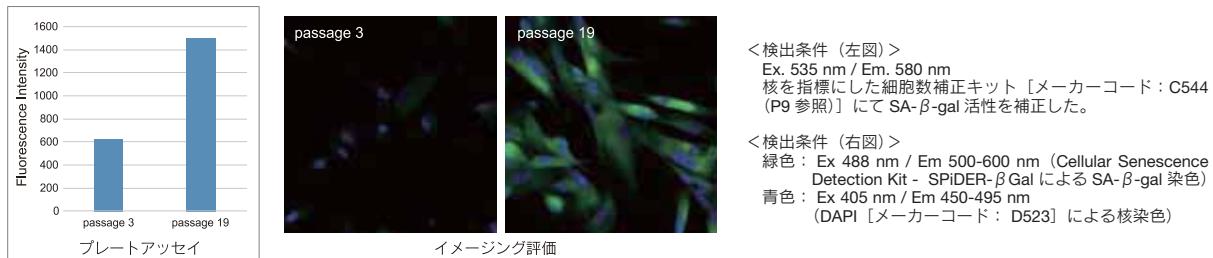
#### 老化細胞マイクロプレートアッセイキット [マイクロプレートリーダー用] Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER- $\beta$ Gal

本製品は、老化細胞の指標として用いられる SA- $\beta$ -gal (senescence-associated  $\beta$ -galactosidase) 活性をマイクロプレートアッセイにより簡便に検出できるキットです。本キットは  $\beta$ -galactosidase 検出試薬である SPiDER- $\beta$ Gal を採用しており、96 ウエルプレートに試薬を加えるだけで SA- $\beta$ -gal 活性を数値化でき、更には多検体の評価にも利用することができます。



#### <測定例>

継代数の異なる WI-38 細胞を用い本キットによるマイクロプレートアッセイ（左図）および Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- $\beta$ Gal [メーカーコード：SG03] によるイメージング評価（右図）を行いました。



#### 老化細胞検出キット [蛍光顕微鏡、フローサイトメーター用]

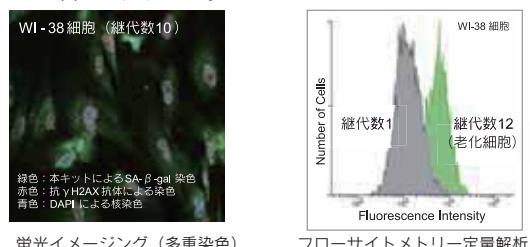
#### Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- $\beta$ Gal

本製品は、生細胞または固定化細胞を用いた SA- $\beta$ -gal (老化細胞の指標) のイメージングやフローサイトメトリー解析に有用です。



#### <測定例>

継代培養を繰り返した WI-38 において SA- $\beta$ -gal の発現が亢進していることが確認されました。



#### （SPiDER- $\beta$ Gal を使用した論文報告例）

細胞（組織）種・老化誘導条件	測定装置
MRC 細胞（ヒト正常二倍体線維芽細胞） Heat Shock Protein 27 のノックダウン	蛍光顕微鏡
A549 細胞（ヒト肺癌上皮細胞） Pemetrexed（抗がん剤）添加	蛍光顕微鏡・FCM
NHDF 細胞（ヒト線維芽細胞） 100 μmol/L H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 37°C、1 h 処理	蛍光顕微鏡
高脂肪試料およびマウス脂肪組織 糖尿病治療薬（SGLT2 阻害薬）の 有無で投与したマウス	蛍光顕微鏡
6週および78週マウス 腸上皮オルガノイド	蛍光顕微鏡

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER- $\beta$ Gal	20 tests 100 tests	11,000 32,000	SG05
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- $\beta$ Gal	10 assays	38,000	SG03

論文情報の詳細は HP に掲載しています。

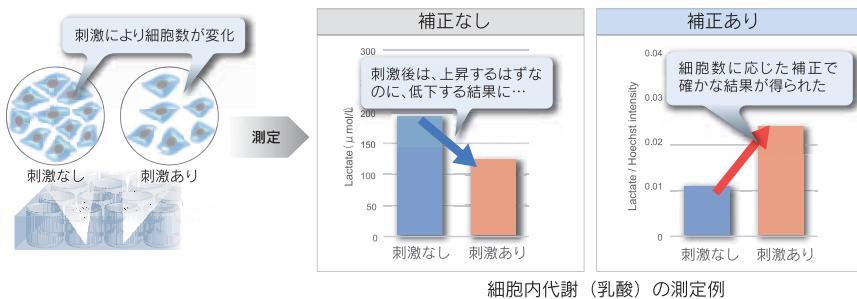
細胞老化 同仁 検索

## 新製品

### 細胞数補正キット

#### Cell Count Normalization Kit

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り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。



#### <既存法との比較>

マイクロプレートアッセイ時の補正方法として、細胞数を直接数えるカウント法や相関する指標（核、タンパク質量）での試験法が知られています。これらの中で、核染色法は最も簡単な操作で多検体の解析が可能です。

	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	○ 1 step	✗ 5 steps	△ 3 steps
多検体処理への対応	○ 96-well 対応	✗	○ 96-well 対応
生細胞のまま測定	○	○	✗
細胞溶解後の測定	✗	✗	○
実細胞数と一致する	△ <sup>※1</sup>	○	△ <sup>※2</sup>

※ 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。

#### <お客様の声>

本製品を使用された方から、以下のご意見を頂きました。

##### 細胞数カウント法のご使用者様

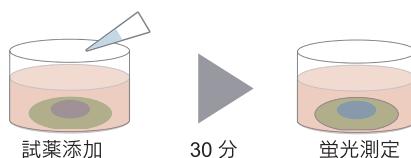
- ▶ 細胞数カウントは非常に面倒だったが  
本キットの簡便操作はとても魅力的。

##### タンパク質定量法のご使用者様

- ▶ 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。

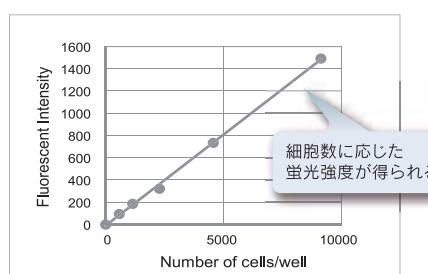
#### <操作>

細胞数に試薬を加え、30分後にプレートリーダーで測定するだけの簡単な操作です。



#### <測定例>

HeLa細胞を段階希釈し96穴プレートに播種し、一晩培養後本キットで測定しました。



#### 品名

#### 容量

#### 希望納入価格(¥)

#### メーカーコード

Cell Count Normalization Kit

200 tests

8,000

C544

1000 tests

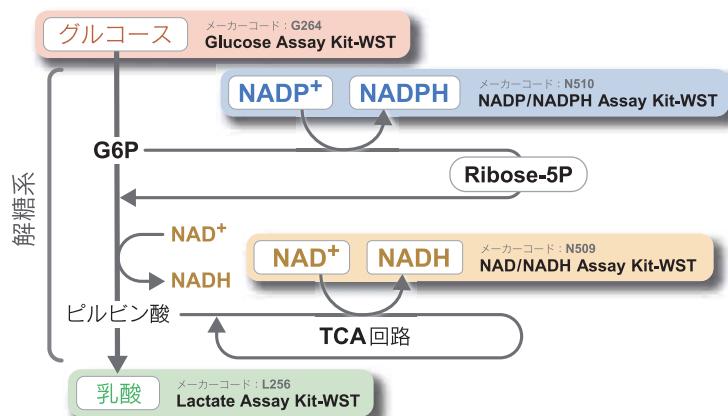
20,000

## 新製品

### 細胞内代謝測定キット

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、乳酸および、NAD(P)<sup>+</sup>/NAD(P)Hなどの代謝産物を指標に評価されています。

#### 細胞内代謝関連マップと疾患サンプルの評価例で理解が深まる



#### はじめて代謝を測定される方へ

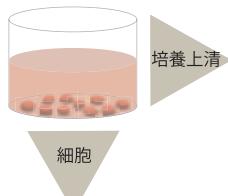
様々な疾患による細胞内代謝の変動を表やマップで紹介しております。また参考論文も掲載しておりますので、論文執筆時の引用文献としてもご活用頂けます。詳細は小社HPにてご覧ください。

細胞内代謝 同仁 検索



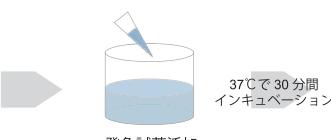
#### 簡単な操作で測定

##### 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可能



##### 解析

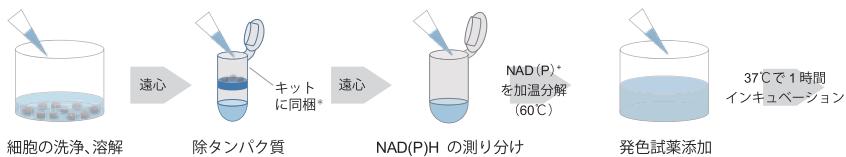
プレートリーダー  
吸光度測定(450 nm)

※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<sup>+</sup>/NADPH / NAD<sup>+</sup>/NADH の測定手順

同仁化学だけ!

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



##### 解析

プレートリーダー  
吸光度測定(450 nm)

併せて使うと便利! 代謝活性測定の際、細胞数を補正することでデータの信頼性が向上します。

細胞数補正キット [メーカーコード: C544] は本紙P9をご参照ください。

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Glucose Assay Kit-WST	50 tests	18,000	G264
	200 tests	38,000	
Lactate Assay Kit-WST	50 tests	29,000	L256
	200 tests	68,000	
NAD/NADH Assay Kit-WST	100 tests	54,000	N509
	100 tests	54,000	
NADP/NADPH Assay Kit-WST	100 tests	54,000	N510
	100 tests	54,000	

## 新製品

### 細胞内鉄検出試薬

#### FerroOrange

##### <特長>

- ・Fe<sup>2+</sup>への高い選択性
- ・生細胞中のFe<sup>2+</sup>を高感度に検出
- ・96穴マイクロプレートアッセイに対応

FerroOrangeは、培養細胞に添加するだけで、細胞膜を透過しその後、細胞内のFe<sup>2+</sup>と選択的に反応して強い蛍光( $\lambda_{\text{ex}}: 543 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}: 580 \text{ nm}$ )を発します。マイクロプレートアッセイによりFe<sup>2+</sup>の増減を数値データで比較できます。

##### <検出例>

細胞内に存在するFe<sup>2+</sup>を確認するため、鉄キレート試薬Bpy(2,2'-bipyridine)または鉄(硫酸アンモニウム鉄(II))を添加したHeLa細胞を用い、細胞内のFe<sup>2+</sup>検出しました。

鉄キレート試薬の添加で蛍光強度が低下したことから、添加剤なしの細胞でも内在性のFe<sup>2+</sup>が存在することが確認されました。

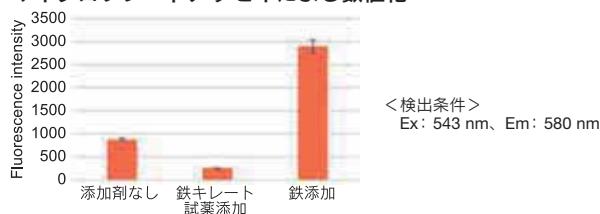
##### イメージング解析



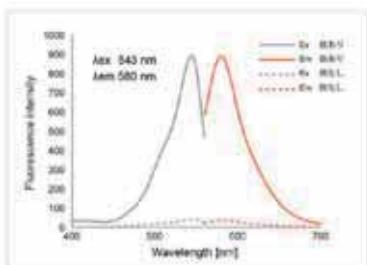
<検出条件> Ex: 561 nm, Em: 570-620 nm

スケールバー: 20 μm

##### マイクロプレートアッセイによる数値化



##### 蛍光特性



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
FerroOrange	24 μg × 1 24 μg × 3	14,000 32,000	F374

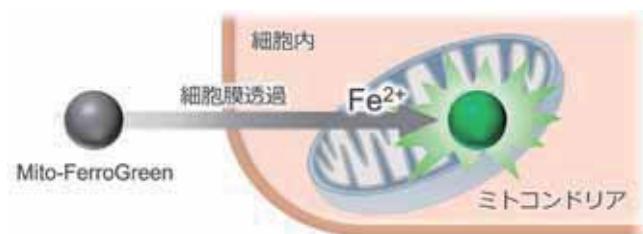
### ミトコンドリア内鉄検出試薬

#### Mito-FerroGreen

##### <特長>

- ・Fe<sup>2+</sup>への高い選択性
- ・生細胞中のミトコンドリアに局在するFe<sup>2+</sup>を検出
- ・488 nm 励起による測定が可能

Mito-FerroGreenは、FeSクラスターやヘム合成の場として知られるミトコンドリア内の鉄(II)イオンと選択的に反応し強い蛍光( $\lambda_{\text{ex}}: 505 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}: 535 \text{ nm}$ )を発する試薬であり、細胞内鉄(II)イオンのライブセルイメージングに利用することができます。



##### <検出例>

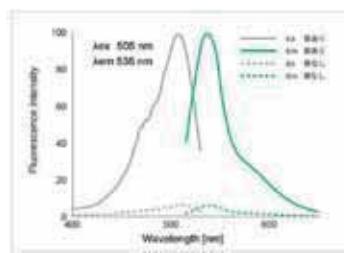
##### ミトコンドリアへの局在の確認

Mito-FerroGreenとミトコンドリア染色試薬(MitoBright Deep Red)の共染色を行ったところ、両試薬の蛍光は重なり、Mito-FerroGreenはミトコンドリア内の鉄(II)を選択的に染色していることを確認しました。



<検出条件> Mito-FerroGreen Ex: 488 nm, Em: 500-565 nm  
MitoBright Deep Red Ex: 640 nm, Em: 656-700 nm

##### 蛍光特性



##### キーワードで検索

鉄 同仁

検索

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Mito-FerroGreen	50 μg × 2	25,000	M489

## 新製品

### オートファジー検出試薬

#### DAPRed-Autophagy Detection (3月22日発売予定)

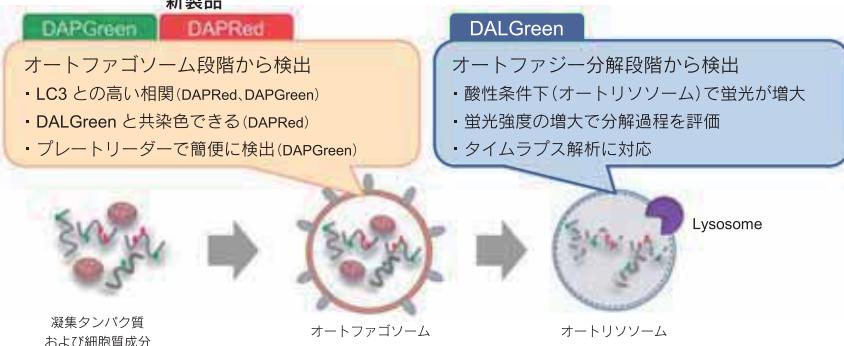
#### DAPGreen-Autophagy Detection

#### DALGreen-Autophagy Detection

オートファジーは、細胞内の不要なタンパク質・細胞小器官等の再利用や代謝のための分解機構として知られており、様々な疾患への関与も示唆されています。DAPRed、DAPGreen、DALGreen は試薬を培養細胞に添加するだけで簡単にオートファジーを検出できる蛍光試薬です。

DAPRed、DAPGreen はオートファゴソーム膜に取り込まれ蛍光を発します。一方、DALGreen は凝集タンパク質等が分解されるオートリソーム段階で蛍光を発します。このように DAPRed、DAPGreen、DALGreen は、“オートファゴソーム形成およびリソームとの融合・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ます。

#### 新製品



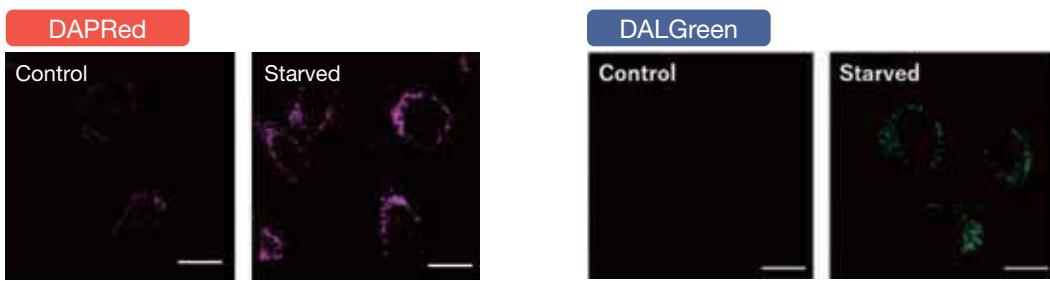
#### <操作は試薬の添加だけ>

遺伝子導入は不要です。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による解析が可能です。



#### <測定例>

DAPRed、DALGreen で染色した HeLa 細胞をアミノ酸不含有培地にて培養し、蛍光顕微鏡にて観察しました。アミノ酸を含む培地を使ったコントロールと比較すると、飢餓状態ではいずれも蛍光強度の増大が見られました。



DALGreen データ引用元 : 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 Letters.*, 2018, 592(4), 559-567.

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
DAPRed - Autophagy Detection	5 nmol	36,000	D677
DAPGreen - Autophagy Detection	5 nmol	36,000	D676
DALGreen - Autophagy Detection	20 nmol	28,000	D675

本製品を使用した論文がオープンアクセスになりました。  
詳細は、小社 HP よりご覧いただけます。

オートファジー 同仁 検索

3月22日発売予定

### 抗酸化能測定キットー DPPH ラジカル消去活性

#### DPPH Antioxidant Assay Kit

##### <特長>

- ・必要な試薬がすべてそろったキット
- ・マイクロプレートアッセイによる多検体処理が可能

近年、様々な疾患の発症や健康障害に抗酸化力の低下が関与していることが示唆されており、抗酸化活性を有する食品への期待が高まっています。本キットは、抗酸化活性評価法の中でも測定精度が高いことが報告されているDPPH法<sup>\*</sup>をマイクロプレートアッセイで簡便に行える製品です。

キット付属のDPPH ReagentとTrolox Standardはエタノールに溶かすだけで使用できます。

※日本食品科学工学会誌, 2007, 54 (11), 482.



品名	容量	希望納入価格(¥) メーカーコード
DPPH Antioxidant Assay Kit	100 tests	6,400
	500 tests	19,000

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

### 抗酸化能測定キットー SOD 様活性

#### SOD Assay Kit-WST

##### <特長>

- ・マイクロプレートアッセイによる簡便操作
- ・多検体スクリーニングが可能

活性酸素種は疾病の発症や老化を促進させることができます。これらのストレスに対する防御作用（抗酸化能）を持つ物質は多数報告され、抗酸化能を利用した健康維持、疾病の予防に関する研究が注目されています。

本キットでは、活性酸素種の一つであるスーパーオキシドの消去能を持つSOD (superoxide dismutase) 様活性を測定することができます。

##### <操作>

試薬を添加するだけの簡単な操作で約1時間で測定が完了します。



本キットを使用した研究報告例を小冊子に掲載しています。

はじめての酸化ストレス 同仁 検索

品名	容量	希望納入価格(¥) メーカーコード
SOD Assay Kit-WST	500 tests	22,900 S311

### 血圧上昇抑制効果を測定

#### ACE Kit-WST

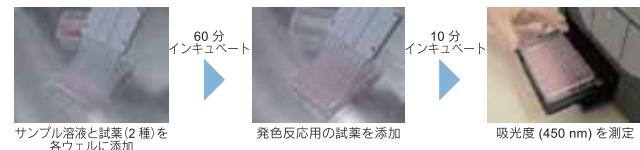
##### <特長>

- ・食品に新たな機能性が付加できる
- ・マイクロプレートアッセイによる多検体処理が可能
- ・活性の有無を簡単に確認できるプロトコルを追加

高血圧疾患には、体内酵素「ACE（アンジオテンシンⅠ変換酵素）」が大きく関与していることが報告されており、ACEの働きを阻害する食品は、血圧上昇を抑える機能性食品として注目されています。本キットは、食品サンプルの血圧上昇抑制効果の有無を簡単に確認することができます。

##### <操作>

試薬を96穴マイクロプレートに添加し、吸光度を測定。



##### <目的に応じたプロトコル>

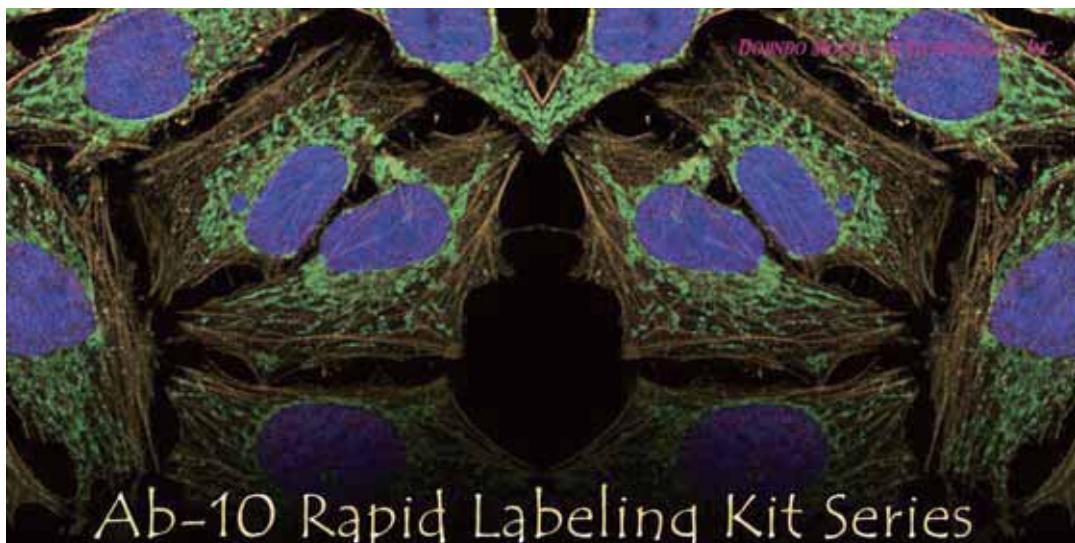
目的に応じて2つのプロトコルを用意しております。

目的	未知試料を測定したい	ACE 阻害活性値を測定したい
実験例	ACE 阻害活性の有無の測定  コントロール サンプル ACE活性(吸光度)	IC <sub>50</sub> の測定  サンプル濃度 サンプルの希釀倍率毎で測定しACE活性を50%阻害する濃度を算出する。
サンプル数	14 (50 tests), 28 (100 tests)	2 (50 tests), 4 (100 tests)

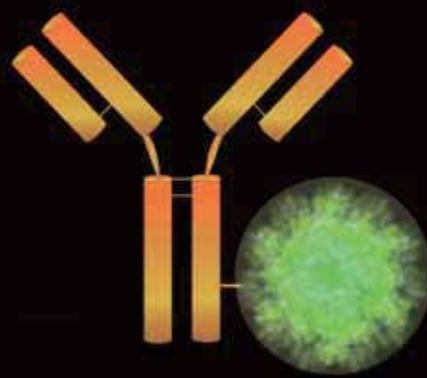
本キットを使用した研究報告例をHPに掲載しています。

ACE 同仁 検索

品名	容量	希望納入価格(¥) メーカーコード
ACE Kit-WST	50 tests	38,000
	100 tests	70,000 A502



## Ab-10 Rapid Labeling Kit Series



ダイレクトに標識

少量の抗体 (10μg) を 30 分で標識できます。 [Ab-10 詳細](#)

Ab-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit

Ab-10 Rapid R-Phycoerythrin Labeling Kit

Ab-10 Rapid HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit

Ab-10 Rapid Peroxidase Labeling Kit

Ab-10 Rapid HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit

Ab-10 Rapid Biotin Labeling Kit

試薬を通して最新研究をサポート

**Dojindo**

ホームページアドレス

URL : <http://www.dojindo.co.jp/>  
E-mail : [info@dojindo.co.jp](mailto:info@dojindo.co.jp)

フリーファックス  
フリーダイヤル

0120-021557  
0120-489548

(受付時間：平日 9:00 ~ 17:00)  
(土・日・祝日は除く)

**Dojin NEWS** No.168

ドージンニュース No.168 平成 31 年 3 月 8 日発行  
株式会社 同仁化学研究所 DOJINDO LABORATORIES  
熊本県上益城郡益城町田原 2025-5 〒861-2202  
発行責任者 満田健一 編集責任者 永田貴裕 年 4 回発行 許可なくコピーを禁ず