



# DOJIN NEWS

ドージンニュース

2019 No.170

ISSN 0385-1516

## 栄養・代謝と疾患

—総説—

### 栄養と代謝からみた健康長寿

東京大学 山内 敏正

—注目の研究—

### 細胞内グルコースの動態可視化

株式会社同仁化学研究所 村井 雅樹

新製品

老化細胞検出キット P.4

細胞内代謝測定キット P.6

ミトコンドリア染色試薬 P.10

開発中

脂肪滴染色蛍光試薬-Deep Red P.9

脂肪滴定量キット P.9

発売予定

グルタミン測定キット/グルタミン酸測定キット P.7

細胞周期測定キット P.12





表紙撮影：熊本県菊池市 菊池渓谷天狗滝  
photo：永島俊介氏

## CONTENTS

### Review

栄養と代謝からみた健康長寿 ●————— [1]

東京大学 山内 敏正

### Topics on Chemistry

細胞内グルコースの動態可視化 ●————— [5]

株式会社同仁化学研究所 村井 雅樹

### Commercial

脂肪滴染色試薬 ●————— [8]

マイトファジー検出キット ●————— [11]

ミトコンドリア膜電位検出キット ●————— [11]

#### 新製品

老化細胞検出キット ●————— [4]

細胞内代謝測定キット ●————— [6]

オートファジー検出蛍光試薬 ●————— [9]

ミトコンドリア染色試薬 ●————— [10]

#### 開発中

脂肪滴染色蛍光試薬 - Deep Red ●————— [9]

脂肪滴測定キット ●————— [9]

#### 近日発売予定

グルタミン測定キット/グルタミン酸測定キット ●————— [7]

細胞周期測定キット ●————— [12]

バイオフィーム形成阻害測定キット・バイオフィーム薬剤効果測定キット ●————— [13]

### お知らせ

製品一覧冊子のご案内 ●————— [5]

第30回フォーラム・イン・ドージン開催 ●————— [14]

## 栄養と代謝からみた健康長寿

### Optimum Nutrition and Metabolism for Healthy Longevity in Ultra Super-Aged Society



山内 敏正

東京大学  
大学院医学系研究科  
糖尿病・代謝内科  
教授

#### Abstract

During the past half century, the morbidity of diabetes has been explosively increasing by more than 35 fold. This increase is thought to be due to a pandemic of obesity by the environmental factors, such as sedentary life-style and HF diet. Sedentary life-style and HF diet result in visceral fat accumulation and dysregulation of adipokines, leading to ectopic fat accumulation, inflammation and insulin resistance in liver and muscle. Adiponectin Receptor Activators like exercise could have beneficial effects on healthy longevity and obesity-linked diseases, such as type2 DM, Metabolic syndrome, CVD, Cancer, NASH, Nephropathy, Alzheimer's disease etc.

国民健康・栄養調査の概要によれば、BMI (body mass index : [体重(kg)] / [身長(m)]<sup>2</sup>) が 25 kg/m<sup>2</sup> 以上の肥満の割合は男性で約3割、女性で約2割であり、BMI が 30 kg/m<sup>2</sup> 以上の割合は3%程度と少ない。米国では BMI が 30 kg/m<sup>2</sup> 以上の割合が 35%であるのと比較して、著しく低い割合である。一方でわが国の2型糖尿病の有病率は欧米と同程度であり、日本人は軽度の肥満でも生活習慣病を発症しやすく、内臓脂肪蓄積をしやすいことが原因と考えられる。わが国では人口がピークを迎えた2010年頃に向けて60年の間に、2型糖尿病患者数は、30倍以上に増加している。これはわが国では過栄養と運動不足の環境により肥満が増加し、2型糖尿病を急増させたと考えられている。一方、総人口が減少に転じて尚、糖尿病患者数は増え続け、最新の2016年の統計で約1000万人に達したと推計されている。これは、65歳以上の人口が増え続けていることと関連している可能性も考えられる。2018年、わが国の高齢化率は28.1%に達し、超・超高齢社会に突入している。サルコペニアやフレイル、認知症などの問題が増大し、内臓脂肪は益々蓄積し易くなっている。本稿では、人生100年時代の健康長寿実現に向けて、栄養と代謝も含めて、メタボリックシンドロームや肥満症、サルコペニア肥満について概説する。

#### 1. メタボリックシンドロームの診断

複数の心血管疾患の危険因子・代謝異常が集積し心血管疾患の発症リスクが高まる病態がマルチプルリスク症候群であり、1999年にWHOがメタボリックシンドロームと呼ぶことを提唱した。わが国では、2000年に日本肥満学会から肥満症の概念が提唱され、2005年にメタボリックシンドロームの診断基準が日本内科学会等8学会による合同診断基準検討委員会により作成された<sup>1)</sup>。メタボリックシンドロームは、内臓脂肪蓄積によって生じる種々のリスクファクターや代謝異常を、減量によって包括的に改善させ、心血管疾患の発症を予防するという疾患概念である。

わが国においては、内臓脂肪蓄積のスクリーニング項目であるウエスト周囲長を必須項目とし、高血糖、脂質異常、高血圧の3項目のうち2項目以上あれば、メタボリックシンドロームと診断する<sup>1)</sup>。2008年から、この診断基準を用いて、特定健康診査・特定保健指導が実施されている。わが国のメタボリックシンドローム診断に用いられる内臓脂肪蓄積の基準は、臍レベルのウエスト周囲長で男性85cm以上、女性90cm以上と定めている。これ

は、内臓脂肪面積が100cm<sup>2</sup>以上で健康障害を一つ以上保有することから、100cm<sup>2</sup>に相当するウエスト周囲長を検査し設定された。一方、国際糖尿病連合によるメタボリックシンドローム診断基準は、2009年にウエスト周囲長を必須項目としない基準に変更されている。

#### 2. メタボリックシンドロームに対する生活習慣への介入の効果

津下らは特定保健指導の対象者のうち積極支援を6か月間受けた3,480人について、1年後の体重減少と健康障害や代謝異常の改善の関係を検討した。1~3%の減量でもHbA1c、肝機能、脂質では改善がみられ、3~5%の減量により、さらに血圧、空腹時血糖値、尿酸値においても有意に改善を示した<sup>2)</sup>。これらの結果から、肥満症において3%の体重減少でも包括的に健康障害や代謝異常の改善が得られることが明らかとなった。

一方で米国においては、メタボリックシンドロームの5,145人を対象としたランダム化比較研究Look AHEADにおいて、生活習慣介入による減量により、期待された心血管疾患発症抑制効果は明らかではなかったが、心血管リスクが包括的に改善することが報告されている。試験開始後1年以内に体重が10%以上減少した患者においては、体重の変化が2%未満であった患者に比べ、心血管疾患の発症率が21%低く、積極的な生活習慣介入による10%を超える大幅な減量の達成が、心血管疾患イベントの抑制に關与する可能性が示唆された。

#### 3. 肥満症の診断

肥満症は、肥満に伴う個々の健康障害を、減量することによって改善する疾患概念であり、2000年から日本肥満学会が提唱した。肥満症は、肥満に伴う心血管疾患を含めてより多くの健康障害を念頭においていることから、メタボリックシンドロームより広い概念と考えられる。肥満の判定基準として、BMIを用いて、BMIが25kg/m<sup>2</sup>以上を肥満とする。肥満と判定されたもののうち、①肥満に起因ないし関連し、減量を要する健康障害を有するもの、または②健康障害を伴いやすい高リスク肥満として、ウエスト周囲長によるスクリーニングで内臓脂肪蓄積を疑われ、腹部CT検査によって確定診断された内臓脂肪型肥満、のいずれかの条件を満たす場合に、わが国における肥満症と診断する。肥満に起因ないし関連し、減量を要する健康障害として、診断に必須な

ものは11疾患が挙げられる<sup>3)</sup>。

肥満症診療ガイドライン2016においては、BMIが35以上の肥満を高度肥満と判定し、肥満に起因あるいは関連する健康障害を併せ持つ場合に、高度肥満症と診断する。また治療指針においても肥満症、高度肥満症で区別をしている。

#### 4. 肥満が代謝異常を引き起こすメカニズム

脂肪組織は、エネルギーの貯蔵庫であると同時にアディポカインと呼ばれる生理活性物質を分泌する内分泌臓器である。肥満者の脂肪組織においては、酸化ストレスが高まり炎症性サイトカインが産生され、免疫細胞の浸潤が認められ、糖代謝異常をひきおこす。また、脂肪組織以外に蓄積する異所性脂肪は、肝臓・骨格筋においてインスリン抵抗性を引き起こし、膵β細胞においてインスリン分泌障害の病態と関連する。

脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンは、肥満にともない産生が低下し、糖代謝異常、炎症をひきおこす<sup>4)</sup>。アディポネクチン受容体活性化低分子化合物アディポロンは、アディポネクチン受容体を介してマウスにおいて糖代謝を改善し、寿命も延伸させる。アディポロンは、メタボリックシンドロームや2型糖尿病、糖尿病性腎臓病(DKD)、さらに心筋梗塞や脳梗塞、がんなどにも効果が期待され、開発を進めている<sup>5)</sup>(図1)。

肥満において、腸内細菌が変化して、腸管バリア機能、腸管内分泌細胞からのインクレチン分泌を変えることが明らかとなっており、新たな病態の解明と治療法の開発が期待される。肥満および代謝疾患において、クリステンセネラセ菌やピフィズス菌やアッカーマンシア菌が減少し、腸内細菌の多様性が低下していることが報告されている。腸内細菌により食物繊維が分解されて産生される短鎖脂肪酸が、エネルギー消費を亢進させ、食欲抑制ホルモンを増加させることが報告されている<sup>6)</sup>。

中枢神経系による食欲の亢進と抑制に関わる制御について、脳内報酬系が肥満と関連することが明らかとなってきた。また中枢神経や代謝に関連する臓器などにおいて代謝に重要な分子の日内変動が認められる<sup>7)</sup>。これら代謝に重要な分子の発現レベルの日内変動を考慮した肥満しにくい栄養摂取や運動の生活への取り入れ方について研究が進んでいる。8人の検討にて、栄養摂取の時間を朝9時から午後3時までの6時間とした場合、同じカロリーを摂取してもインスリン抵抗性が改善することが報告されている。

#### 5. 肥満症の代謝異常を改善させる方法

肥満症に対して、食事療法、運動療法および認知行動療法を実施する。BMIが25 kg/m<sup>2</sup>以上、35 kg/m<sup>2</sup>未満の肥満症において、1日の標準体重あたり25 kcal以下を摂取カロリーとして、3～6か月で3%以上の減量を目標とする<sup>3)</sup>。BMIが35 kg/m<sup>2</sup>以上の高度肥満症では、1日の標準体重あたり20～25 kcal以下を摂取カロリーとして、5～10%の減量を目標とする。運動療法は、心疾患や整形外科的疾患の合併症などを考慮して、自転車こぎなどの有酸素運動とスクワットなどのレジスタンス運動を組み合わせ実施する。食行動について、食行動質問表やグラフ化体重日記により、課題を認識し食行動を改善することが可能となる。

#### 6. 高度肥満症に対する薬物療法と外科手術

高度肥満症患者はわが国に60万人いると推定され、患者のニーズに応じて、高度肥満症に対する外科手術が安全に行われる環境づくりが必要である。高度肥満症では、食事・運動療法、認

知行動療法に加え、薬物療法や外科療法も選択肢となる。薬物療法について、わが国ではマジンドールが、BMIが35 kg/m<sup>2</sup>以上の高度肥満症に保険適用があるが、使用は3か月までに限られており、高血圧やうつ病などの副作用に十分に注意が必要である。国際的により有効性が高くかつ安全性も高いと考えられる肥満症治療薬が開発・臨床使用されている。わが国ではGLP-1受容体作動薬のリラグルチドが1日0.9 mgを最大用量として糖尿病に適用があるが、米国では1日3.0 mgの製剤が抗肥満薬として認可されている。3,731人への投与において、平均8%の体重減少が認められたことが報告されている。リパーゼ阻害薬のセチリスタット、食欲抑制の作用をもつ5-HT<sub>2c</sub>受容体作動薬のロルカセリン、交感神経刺激薬 phentermine と抗てんかん topiramate の合剤、オピオイド阻害薬 naltrexone と抗うつ薬 bupropion の合剤などが米国において認可されている。

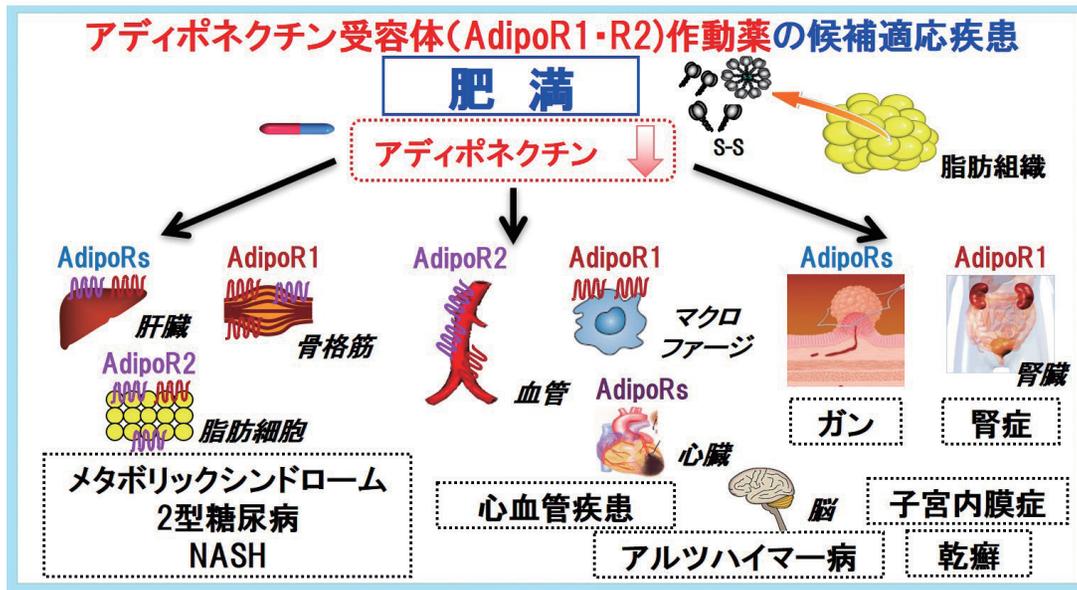
6か月以上の内科治療に抵抗性の高度肥満症に対する外科手術について腹腔鏡下スリーブ状胃切除術が保険適用となり、認定医療機関で実施可能となっている。腹腔鏡下スリーブ状胃切除術は、糖尿病、高血圧症、脂質異常症ならびに閉塞性睡眠時無呼吸症候群のうち、いずれかの健康障害を有するBMIが35 kg/m<sup>2</sup>以上の高度肥満症に保険適用がある。日本の多施設共同研究において、スリーブ手術や胃バイパス術により、有意な体重減少と糖尿病などの代謝疾患が改善することが報告されている<sup>8)</sup>。欧米において、スリーブ状胃切除術、胃バイパス術、胃バンディング術などが実施され、生命予後が改善することが明らかとなっている<sup>9)</sup>。高度肥満症に対する外科手術は内科的治療と比較して、体重は1年後において有意に減量できており、徐々に再増加するものの体重減少を維持でき、糖尿病や高血圧症や変形性膝関節症が改善する。米国糖尿病学会の2017年のガイドラインにおいて、欧米人はBMIが30以上、アジア人はBMIが27.5以上の肥満に基準が引き下げられている。

高度肥満症に対する外科治療において、内科、外科、精神科、麻酔科などの医師に加え、看護師や栄養士などメディカルスタッフが共同したチーム医療が不可欠である。術前に合併症の把握や、食事療法のアドヒアランスなどを確認し、周術期の安全を確保する。高度肥満症外科手術の術前など速やかな減量が必要な場合には、超低エネルギー食を検討する。術後のフォローアップにおいて、体重の減少や食事療法のアドヒアランスを確認し、欠乏する鉄やビタミンやカルシウムなどの栄養素について補充する。

#### 7. 肥満に伴う糖代謝異常や糖尿病の治療

肥満はインスリン抵抗性を介して2型糖尿病を発症させるリスクとなる。肥満は、糖尿病の発症と病態の進展、さらに合併症の発症と進展を増悪させる因子である。肥満を伴う耐糖能異常者に対して、体重減少を目標とした強力な生活習慣介入を行うことで、糖尿病の発症リスクを半減できることが、複数のランダム化比較試験で示されている。また、アジア、オセアニアの27件のコホート研究のメタアナリシスにおいて、BMIが2低下することにより糖尿病発症リスクは27%低下すると報告している。かかりつけ医による12か月の強力な食事療法により平均10 kgの体重を減量すると、46%の症例で糖尿病治療薬が不要になることが明らかとなり、費用についても検討されている<sup>10)</sup>。

肥満に合併する糖尿病について、内服薬の選択が重要である。GLP-1受容体作動薬は、食欲抑制作用があり、体重の低下が期待でき、高リスク患者における心血管イベント等の抑制作用についても報告がある。SGLT2阻害薬は、尿糖排泄促進により血糖値を



**“アディポネクチン・AdipoR経路の活性化”は、カロリー制限・運動同様、critical common pathwayに作用し、メタボリックシンドローム・2型糖尿病・心血管疾患、ガン、NASH、腎症、アルツハイマー病など、肥満で増加する生活習慣病の治療法となり健康長寿の実現に貢献する可能性**

図1 アディポネクチン受容体 (AdipoR1・R2) 作動薬の候補適応疾患

改善するため、体重の減少が期待でき、高リスク患者における心不全などの心血管イベントの抑制作用や腎保護効果について明らかとなってきている。

## 8. 肥満症に関する臨床研究

日本肥満学会において二つの臨床研究が進行している。メタボリックシンドローム・肥満症の病態の解明、治療法の開発とともに科学的根拠の構築が期待される。肥満症に対する効果的な治療戦略と健康障害の改善に資する治療戦略と健康障害の改善に資する減量数値目標を見出すための介入研究（研究代表者：千葉大学大学院医学研究院教授 横手幸太郎先生）において、肥満症に対する減量治療を通して、健康障害を改善するための具体的数値目標を見出すことを目的として、IoT や ICT の有用性の検証も目指している。

電子診療録直結型情報収集システムを活用した肥満症に関する大規模包括的データベース研究（研究代表者：神戸大学大学院医学研究科教授 小川渉先生）において、認定肥満症専門病院の電子カルテに肥満症診療情報を記載するテンプレートを装備し、基本的情報、肥満症診断基準に必要な11の健康障害、そのほかの肥満関連の健康障害、治療に関する情報について大規模なデータベースを構築することで、肥満に合併する健康障害の実態の把握や治療法のエビデンスの創出につながる事が期待される。

## 9. 人生100年時代における貯“筋”の重要性と栄養摂取の考え方

65歳以上になるとサルコペニアのリスクが高まることから、タンパク質ならびに総カロリーを個々人に応じて、適切に摂取した

上で、レジスタンス運動も取り入れていく必要がある。二重標識水法によって正確にエネルギー消費が測定された結果、従来考えられていたよりもカロリー摂取を増やした方が良いケースが多いことも明らかになってきた。わが国は2018年に超・超高齢社会に突入したことより、サルコペニア対策が急務であり、年齢も含めた個人毎の目標体重の導入が必要と考えられる。サルコペニアはフレイル、骨粗鬆症、認知症などのリスクも高める為、代謝異常のみならず、転倒防止、ひいては寝たきり予防にも最重要と考えられる。人生100年時代においては貯“筋”が重要で、サルコペニアが多くの病態と関連する分子メカニズムとしてマイオカインの同定も含め、明日の医療・医学が切り拓かれ、飛躍的に発展していくことが期待される。

## おわりに

2015年10月に日本肥満学会とアジア・オセアニア肥満学会が同時開催され、参加11か国が調印し、治療すべき肥満としての肥満症を、国際的な概念として提唱する名古屋宣言が採択された。2018年10月に日本医学会連合の中に23学会が集結した領域横断的肥満症ワーキンググループ(春日雅人ワーキンググループ長)が設置され、討議の結果、第39回日本肥満学会と合同して「神戸宣言2018」を発売された。日本医学会連合に加盟する内科系学会に加え、外科系学会・小児科学会・産婦人科学会・整形外科学会・精神神経系学会などが連携して、領域横断的に肥満症に対応することが必要と考えられた。肥満症の治療としては、減量が重要であり、個々人に最も適した治療法を選択することが望まれる。また、個々人の努力だけでなく健康的な栄養摂取が選択しやすい環境、運動に適した街づくりなど環境や、サルコペニア肥満の改

善に取り組む社会が求められている。

[参考文献]

- 1) メタボリックシンドローム診断基準検討委員会 メタボリックシンドロームの定義と診断基準, *日本内科学会雑誌*, **2005**; *94*: 794-809.
- 2) 厚生労働科学研究「生活習慣病予防活動・疾病管理による健康指標に及ぼす影響と医療費適正化効果に関する研究」(平成 22 ~ 24 年度)
- 3) 日本肥満学会. 肥満症診療ガイドライン 2016. ライフサイエンス出版.
- 4) T. Yamauchi, et al., The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity, *Nature Med.*, **2001**, *7*, 941-946.
- 5) M. Okada-Iwabu, et al., A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity, *Nature*, **2013**, *503*, 493-499.
- 6) L. Zhao, et al., Gut bacteria selectively promoter by dietary fibers alleviate type 2 diabetes, *Science*, **2018**, *359*, 1151-1156.
- 7) L. S. Mure, et al., Diurnal transcriptome atlas of a primate across major neural and peripheral tissues, *Science*, **2018**, *359*, eaao0318.
- 8) H. Haruta, et al., Long-term outcomes of bariatric and metabolic surgery in Japan: results of a multi-institutional survey, *Obes. Surg.*, **2017**, *27*, 754-762.
- 9) P. R. Schauer, et al., Bariatric Surgery versus intensive medical therapy for diabetes — 5-year outcomes, *N. Eng. J. Med.*, **2017**, *376*, 641-651.
- 10) Y. Xin, et al., Within-trial cost and 1-year cost-effectiveness of the DiRECT/Counterweight-Plus weight management programme to achieve remission of type 2 diabetes, *Lancet Diabetes Endocrinol.*, **2019**, *7*, 169-172.

[著者プロフィール]

氏名：山内 敏正  
 所属：東京大学大学院医学系研究科  
 糖尿病・代謝内科  
 〒 113-8655  
 東京都文京区本郷 7-3-1  
 Tel：03-5800-9587  
 E-mail：tyama-u@umin.net  
 出身学校：東京大学医学部医学科  
 学位：博士（医学）  
 専門分野：代謝・栄養病態学  
 現在の研究テーマ：2型糖尿病の遺伝因子の同定、メタボリックメ  
 モリー本態解明に向けたエピゲノム解析、超・超高齢社会  
 における健康長寿薬開発への挑戦、2型糖尿病の合併症抑  
 制に向けた治療戦略の確立、他

新製品

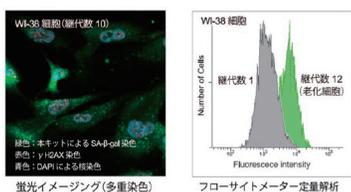
老化細胞検出キット

小社の老化細胞検出キットは、老化細胞の指標の一つである SA-β-gal (senescence-associated β-galactosidase) 活性を特異的に検出することができます。各キットには蛍光にて検出可能な β-galactosidase 基質 (SPiDER-β Gal) を採用しており、蛍光顕微鏡・フローサイトメーター・プレートリーダーに適用した製品をラインアップしております。

蛍光顕微鏡、フローサイトメーター用

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-β Gal

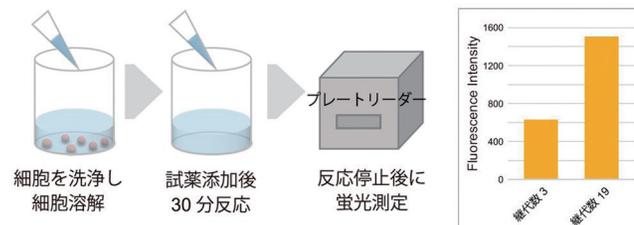
従来の検出法 (X-gal 法) では、比色染色した老化細胞を目視にてカウントしており定量が困難でした。本キットは、フローサイトメーターによる定量解析が可能になりました。



新製品 マイクロプレートリーダー用

Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-β Gal

96ウェルプレートに試薬を加えるだけで SA-β-gal 活性の数値化、更には多検体の評価にも利用することができます。



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

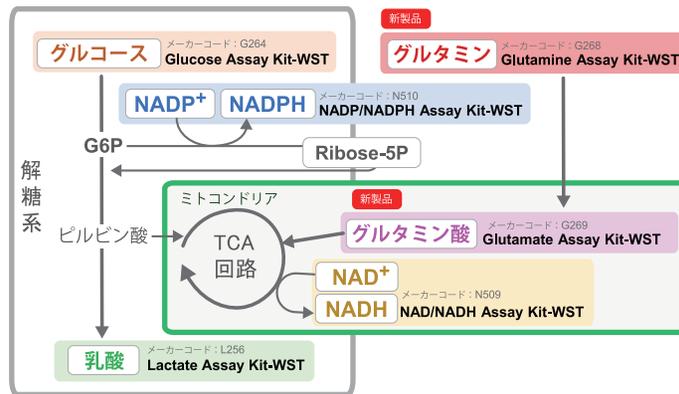


新製品

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、グルコースや乳酸、NAD(P)<sup>+</sup>/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。

細胞内代謝マップ

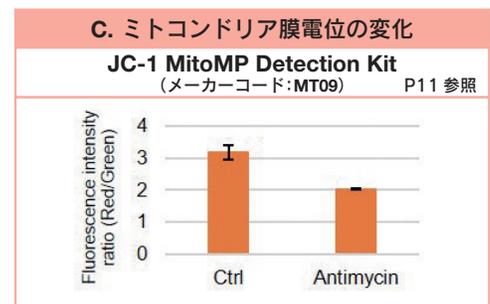
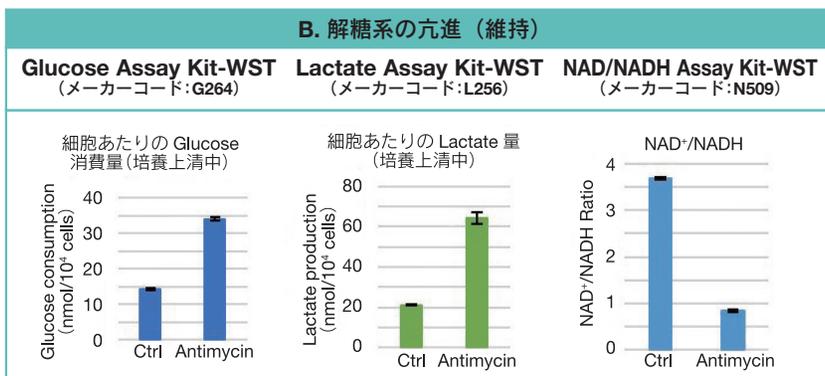
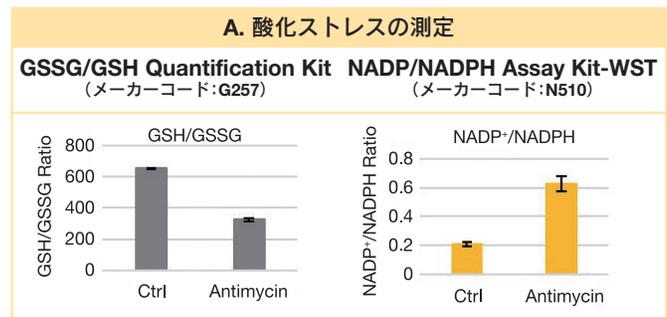
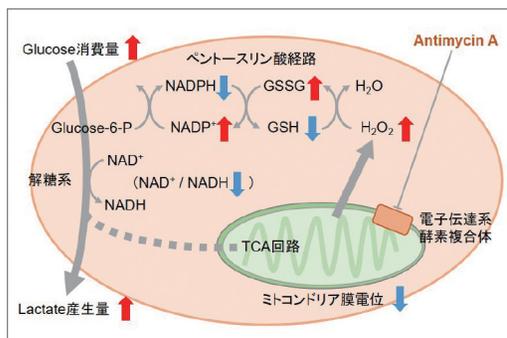


疾患サンプルの評価例は HP にてご覧いただけます。

代謝マップ 同仁 [検索](#)

酸化ストレスを与えた細胞での各指標の変化

ミトコンドリアの電子伝達系の阻害剤である Antimycin で HeLa 細胞を処理し、A. 酸化ストレス (GSH/GSSG, NADP/NADPH)、B. 解糖系 (グルコース、乳酸)、C. ミトコンドリア膜電位を指標として評価しました。Antimycin で処理した細胞では、GSH/GSSG の低下及び NADP/NADPH の上昇がみられ、またミトコンドリア膜電位の低下が確認されました。また、解糖系の亢進により、グルコース消費量の増加、乳酸排出量の増加及び NAD/NADH が減少する結果が見られました。



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
NADP/NADPH Assay Kit-WST	100 tests	54,000	N510

操作の詳細は HP よりご覧いただけます。

メーカーコード 同仁 [検索](#)

9月26日発売予定

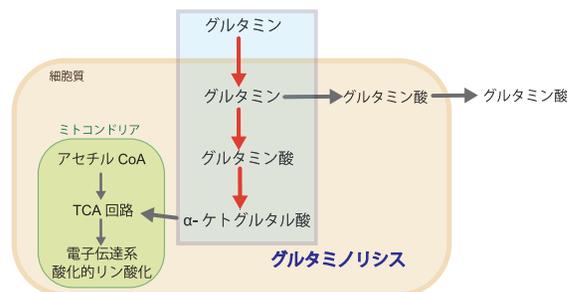
グルタミン測定キット/グルタミン酸測定キット

Glutamine Assay Kit-WST  
Glutamate Assay Kit-WST

<特長>

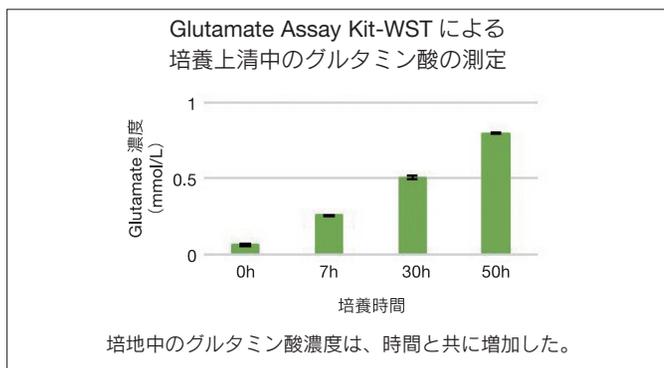
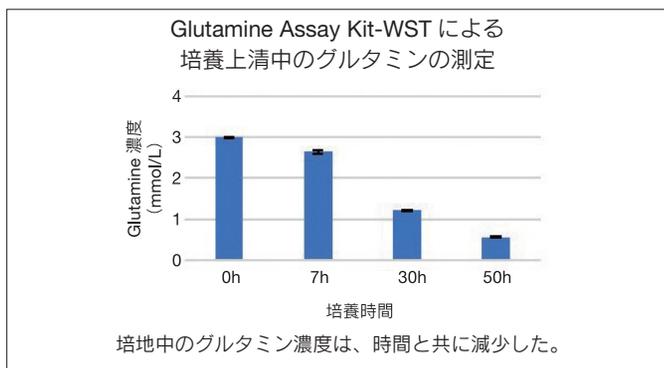
- ・ 試薬を加えてインキュベートするだけの簡単操作
- ・ マイクロプレートアッセイ（比色法）により多検体測定が可能
- ・ 汎用フィルター（450 nm）に対応

グルタミンはがん細胞におけるエネルギー源の1つであり、グルタミン酸はタンパク質およびグルタチオンの生成に使用されています。がん細胞においては、グルタミノリシスが亢進しており、グルタミンから誘導されるグルタミン酸は細胞のレドックス制御に大きく関与しています。Glutamine Assay Kit-WST 及び Glutamate Assay Kit-WST は、グルタミンとグルタミン酸を簡便に定量することができます。



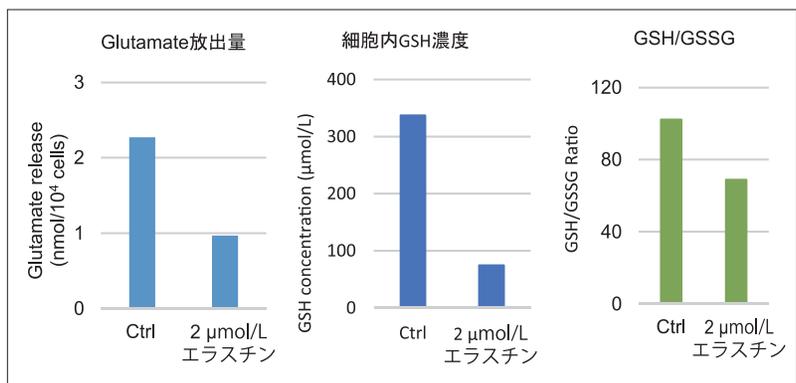
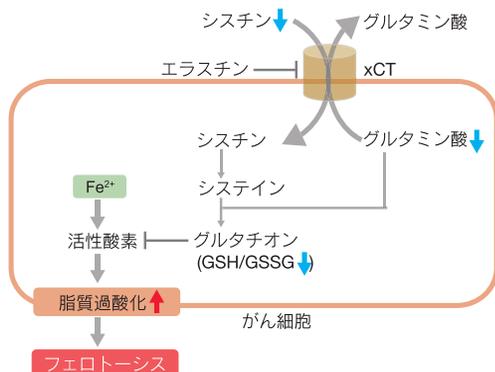
測定例

A549 細胞を 6 穴プレートに播種し、培養時間に伴う細胞培養上清中のグルタミン濃度の変化を Glutamine Assay Kit を用いて測定し、グルタミン酸濃度の変化を Glutamate Assay Kit を用いて測定した。



測定例

エラスチン処理により、シスチン/グルタミン酸トランスポーター（xCT）を阻害すると、鉄依存性細胞死であるフェロトーシスが誘導されることが知られている。エラスチン処理した A459 細胞において、グルタミン酸の放出量及び細胞内グルタチオン量を確認したところ、エラスチン処理した細胞はグルタミン酸放出量が減少し、シスチンの取り込みが阻害されたことにより、グルタチオン量が減少する結果が得られた。



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Glutamine Assay Kit-WST	100 tests	55,000	G268
Glutamate Assay Kit-WST	100 tests	50,000	G269

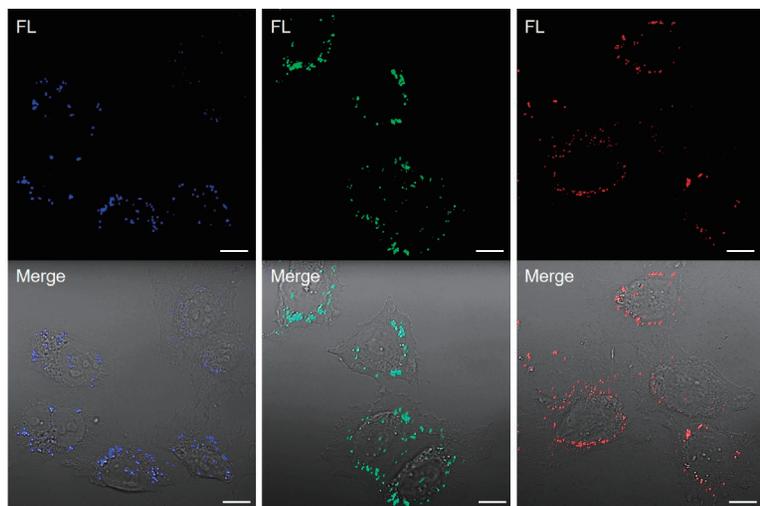
脂肪滴染色試薬

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 μmol/L オレイン酸を添加、  
 一晚培養後に細胞を PBS で洗浄し Lipi -Blue : 0.1 μmol/L,  
 Lipi-Green : 0.1 μmol/L, Lipi-Red : 1 μmol/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 μm

イメージサイトメーターを使用し定量解析を行った事例は、HP よりご覧いただけます。

脂肪滴 同仁 [検索](#)

< 既存試薬との性能比較 >

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			既存品 (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 (低バックグラウンド)	○	○	○	×	×	△
他色素との共染色* 1	○	○	○*2	n/d	×*3	○
生細胞内での滞留性	○	○	×	n/d	×	×

※ 1. 共染色時の推奨フィルターについては HP の Q & A をご覧ください。  
 ※ 2. 緑色蛍光と共染色する際は、550 nm 以下の緑色蛍光フィルターをご使用下さい。  
 ※ 3. GFP 蛍光フィルター (500-540 nm) では緑色蛍光の漏れ込みがあります。

Lipi シリーズを使用した論文が公開されました。

- 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*, **2019**, 58, (6), 499.
- 2) M. Oka, N. Kobayashi, K. Matsumura, M. Nishio and K. Saeki, "Exogenous Cytokine-Free Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Classical Brown Adipocytes", *Cells*, **2019**, 8, (4), 373.

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

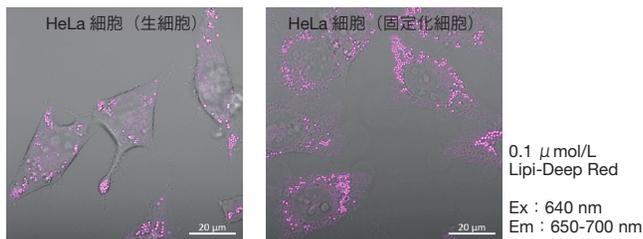
※ 35 mm dish : 10 ~ 50 枚分

開発中

脂肪滴染色蛍光試薬 - Deep Red

Lipi-Deep Red

ご要望を頂いておりました、脂肪滴染色蛍光試薬 Deep Red を開発しております。



開発中

脂肪滴測定キット

脂肪滴をフローサイトメーター、マイクロプレートリーダーで検出可能なキットを開発しております。



ご興味ございましたら小社カスタマーサポートまでお問い合わせください (Free Dial:0120-489548 E-mail:info@dojindo.co.jp)。

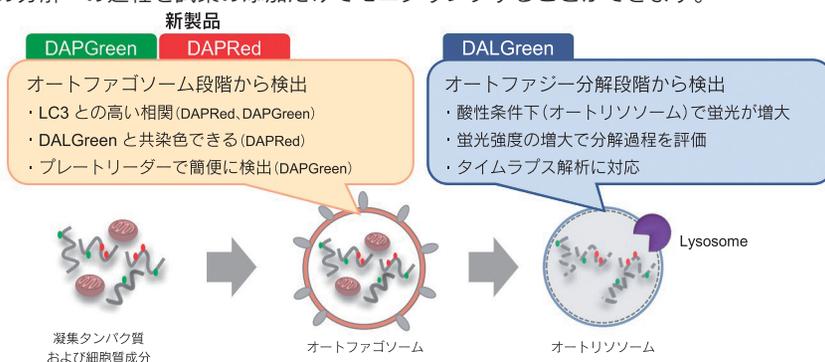
新製品

オートファジー検出蛍光試薬

DAPRed - Autophagy Detection  
DAPGreen - Autophagy Detection  
DALGreen - Autophagy Detection

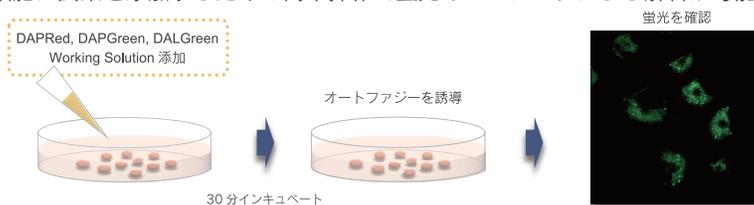
オートファジーは、細胞内の不要なタンパク質・細胞小器官等の再利用や代謝のための分解機構として知られており、様々な疾患への関与も示唆されています。DAPRed、DAPGreen、DALGreen は試薬を培養細胞に添加するだけで簡単にオートファジーを検出できる蛍光試薬です。

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ソームの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。



<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。



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

新製品

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

ミトコンドリア染色試薬

MitoBright LT Green, Red, Deep Red

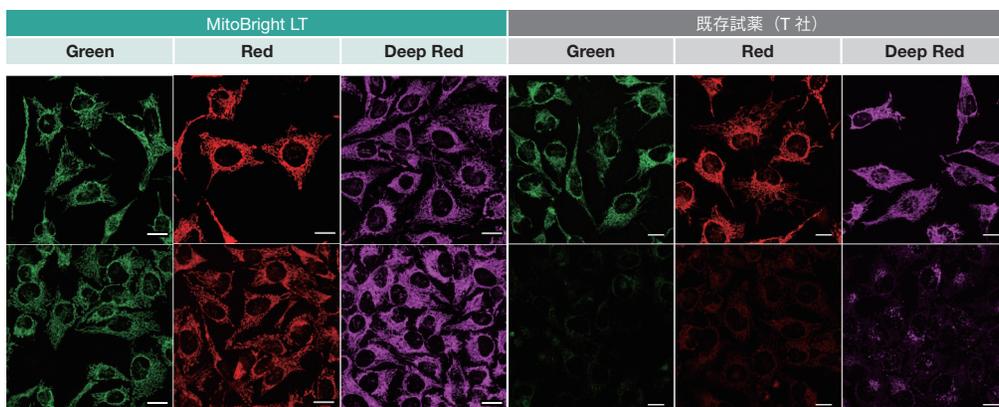
<特長>

- ・ミトコンドリアを染色後長期間観察が可能
- ・血清入り培地中で染色可能

MitoBright LT シリーズでは、ミトコンドリアを長期間観察することができます。既存の低分子のミトコンドリア染色試薬は、細胞内滞留性や細胞毒性の問題がありましたが、MitoBright LT シリーズはこれらの課題を克服しています。

4 日以上培養した細胞でミトコンドリアを観察

HeLa 細胞を HBSS にて洗浄後、各 MitoBright LT または既存試薬にて染色し、血清入り培地に入れ替え、4 日間継続培養後、ミトコンドリアの観察を行いました。その結果、既存試薬は蛍光強度が 4 日後に大きく低下したのに対し、MitoBright LT は蛍光強度が維持され、ミトコンドリアを明瞭に観察できました。さらに継続して培養を行った結果、MitoBright LT で染色した細胞では 7 日後もミトコンドリアに色素が滞留していることが確認されました。



スケールバー：20 μm

既存試薬との比較

MitoBright LT シリーズは、既存のミトコンドリア染色試薬の課題（細胞内滞留性、血清入り培地での染色）を克服しております。また、DMSO 溶液のため、染色溶液を調製する手間がなく、すぐにお使い頂けます。

	MitoBright LT			既存試薬 (T社)		
	Green	Red	Deep Red	Green	Red	Deep Red
製品形態	DMSO 溶液			固体		
生細胞滞留性	○	○	○	×	×	×
血清入り培地での染色	○	○	○	△	△	△
染色後の固定化 (PFA)	○	○	○	○	○	○
染色後の固定化 (MeOH)	×	×	×	×	×	×

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
MitoBright LT Green	20 μL×1	6,000	MT10
	400 μL×1	12,000	
	400 μL×3	30,000	
MitoBright LT Red	20 μL×1	6,000	MT11
	400 μL×1	12,000	
	400 μL×3	30,000	
MitoBright LT Deep Red	20 μL×1	6,000	MT12
	400 μL×1	12,000	
	400 μL×3	30,000	

タイムラプス動画は HP よりご覧いただけます。

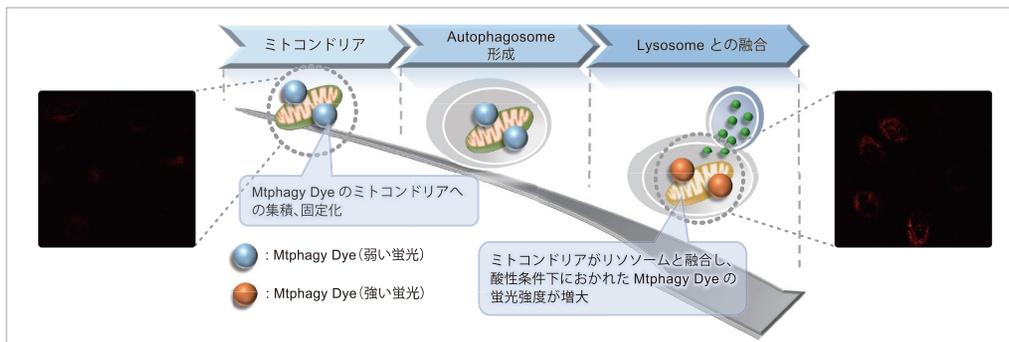
MitoBright LT 同仁 検索

[使用回数の目安 (35 mm dish)]  
20 μL x1 : 10 枚分、 400 μL x1 : 200 枚分

## マイトファジー検出キット

### Mitophagy Detection Kit

本キットはマイトファジーを検出する Mtpagy Dye とリソソームを染色する Lyso Dye で構成されています。Mtpagy Dye は、生細胞膜を透過し細胞内のミトコンドリアに集積した後、化学結合によりミトコンドリアに固定化されます。周辺の環境により蛍光強度が弱い状態の Mtpagy Dye は、マイトファジーが誘導され、ミトコンドリアがリソソームと融合すると、酸性条件下におかれ、蛍光強度が増大します。



本製品を使用した論文が増えております。論文の詳細や測定例は小社 HP よりご覧いただけます。

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Mitophagy Detection Kit	1 set	36,000	MD01
Mtpagy Dye	5 µg ×3	78,000	MT02

Mitophagy 同仁 [検索](#)

## ミトコンドリア膜電位検出キット

### JC-1 MitMP Detection Kit

本キットでは、ミトコンドリア膜電位を測定できます。従来、JC-1 は染色溶液調製の際、溶け難い等の課題がありますが、本キットは溶液調製方法により克服しております。さらに、キットに含まれる Imaging Buffer を用いることにより、蛍光バックグラウンドを抑えながら細胞にダメージを与えにくい状態で、細胞を観察することができます。

#### ■従来の課題を解決

難溶性の JC-1 色素を容易に溶解することができます。

#### ■様々な装置に対応

検出装置毎に実験例を準備しています。

#### ■解析時のバッファーを同梱

細胞の状態をより長く維持するため、HEPES 含有のバッファーを同梱しています。

ミトコンドリア膜電位を初めて測定される方には、各測定装置毎のプロトコルが人気です。

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
JC-1 MitMP Detection Kit	1 set	23,000	MT09

JC-1 同仁 [検索](#)

9月26日発売予定

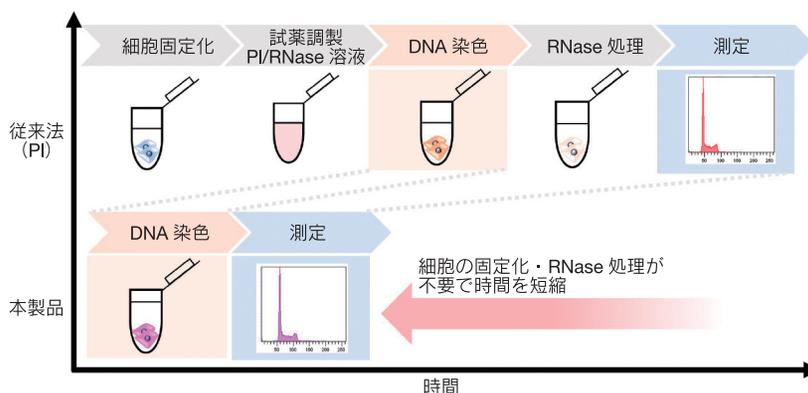
細胞周期測定キット

Cell Cycle Assay Solution Deep Red  
Cell Cycle Assay Solution Blue

<特長>

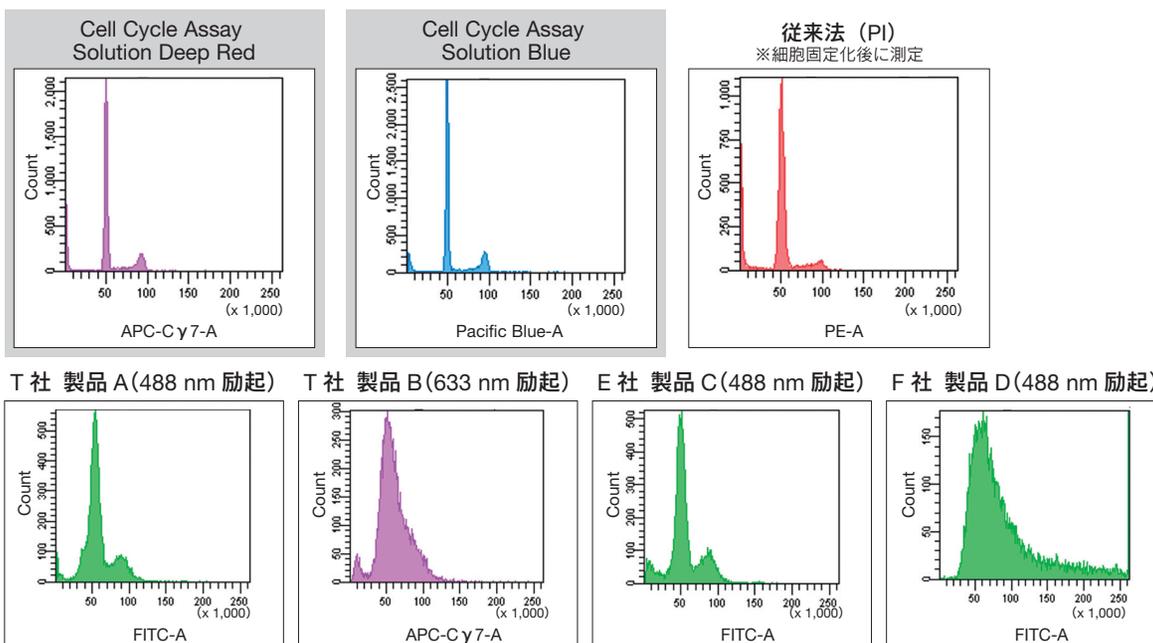
- ・細胞の固定化、RNase 処理が不要で試薬を添加するだけ
- ・633 nm (Deep Red)、405 nm (Blue) のレーザーで励起が可能

フローサイトメーターで細胞周期を測定する場合、一般的にDNAを染色する色素として Propidium Iodide (PI) が使われています。しかしながら、PIは細胞膜透過性、DNA 選択性がないため、細胞周期を測定するには細胞の固定化や RNase 処理が必要です。本製品は細胞膜透過性で DNA 選択性が高い色素を使用しているため、RNase 処理を必要とせず、細胞懸濁液に試薬を添加するだけで測定が可能です。



既存法との比較

CHO 細胞を用い、本製品にて染色した後、フローサイトメーターにて測定しました。また、汎用されている PI 法と既存の細胞周期測定試薬 (製品 A-D の 4 種) を用いて同様の実験を行いました。下図に示すように本製品で測定した結果は PI と同等であり他の 4 製品に比べシャープなヒストグラムが得られ、明確に細胞周期が解析できました。



品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Cell Cycle Assay Solution Deep Red	50 tests	13,000	C548
Cell Cycle Assay Solution Blue	50 tests	13,000	C549

近日発売予定

バイオフィーム形成阻害測定キット・バイオフィーム薬剤効果測定キット

**Biofilm Formation Assay Kit**  
**Biofilm Viability Assay Kit**

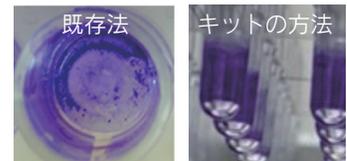
<特長>

- ・マイクロプレートの蓋に固定したピンにバイオフィームを形成させる手法で、洗浄・染色・発色操作が簡便
- ・バイオフィームが剥がれることなく均一に形成可能
- ・多検体処理が可能

Biofilm Formation Assay Kit はクリスタルバイオレット (CV) 染色法によりバイオフィーム形成量および薬剤のバイオフィーム形成阻害を測定することができます。また、Biofilm Viability Assay Kit はバイオフィーム内の生菌の代謝活性を測定することで、バイオフィーム内微生物に対する薬剤の殺菌効果を確認することができます。

従来法との比較

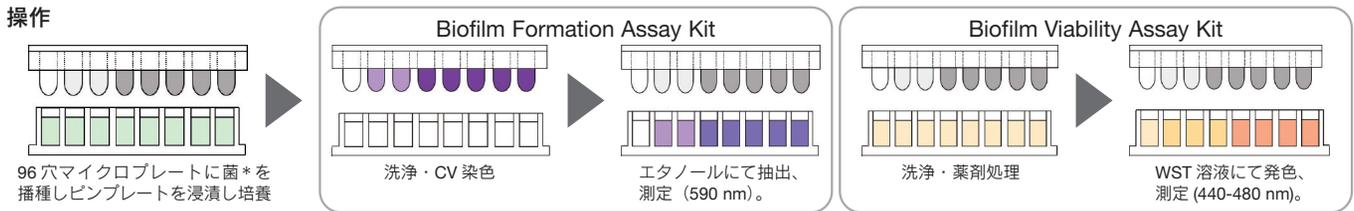
既存法はマイクロプレートにバイオフィームを形成するため、洗浄操作等によりウェルからバイオフィームが剥がれ、操作の手間や測定値のばらつきの問題がありました。本キットは蓋に固定されたピン上にバイオフィームを形成させるため、洗浄・染色・発色操作によりバイオフィームが剥がれることなく多検体を簡便に測定することができます。



実験に応じてキットを選択

製品名	実験	測定対象	測定原理	測定波長
Biofilm Formation Assay Kit	バイオフィームの形成量測定 (バイオフィームの形成阻害評価等)	生菌・死菌・ 細胞外多糖	クリスタル バイオレット法	590 nm
Biofilm Viability Assay Kit	バイオフィーム内の生菌の代謝活性測定 (薬剤の殺菌効果確認等)	生菌	WST 法	460 nm

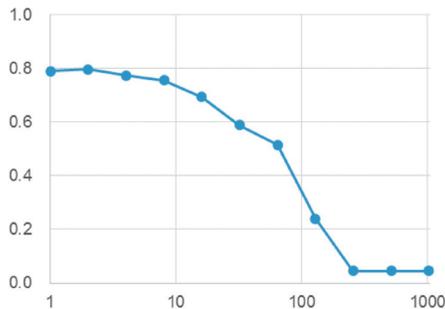
操作



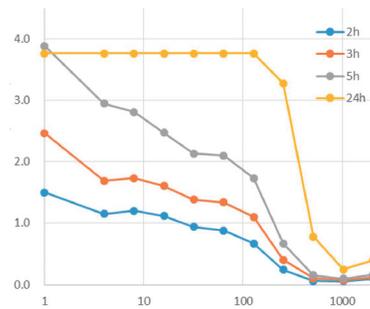
\* 形成阻害を評価する際は菌懸濁液に薬剤を添加する

測定例

Biofilm Formation Assay Kit にて  $\epsilon$ -Poly-L-lysine の *S. aureus* バイオフィームに対する形成阻害を測定したところ、MBIC\*が約 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であることが確認できました。



Biofilm Viability Assay Kit を用いて Minocycline の *S. aureus* バイオフィームに対する薬剤効果を測定したところ、MBEC\*が約 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であることが確認できました。



\* MBIC：最小バイオフィーム形成阻害濃度  
\* MBEC：最小バイオフィーム撲滅濃度

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Biofilm Formation Assay Kit	100 tests	試作品	B601
Biofilm Viability Assay Kit	100 tests	試作品	B603

\* 本キットは福岡県工業技術センター生物食品研究所との共同開発品です。



30th Forum in DOJIN

参加費  
無料  
定員  
200名

# Nutrio- Metabolomic- Pathology

— 栄養と代謝からみた疾患の素顔 —

## Program

10:00~10:05 主催者挨拶 上野 右一郎 (株同仁化学研究所)  
10:05~10:15 世話人挨拶 富澤 一仁 (熊本大学大学院 生命科学研究所 分子生理学講座)

### Session 1 議長 富澤 一仁 (熊本大学大学院 生命科学研究所 分子生理学講座)

10:15~11:15 山内 敏正 (東京大学大学院 医学系研究科 糖尿病・代謝内科)  
「栄養と代謝からみた健康長寿」  
11:15~12:00 山縣 和也 (熊本大学大学院 生命科学研究所 病態生化学講座/健康長寿代謝制御研究センター)  
「SIRT7による代謝・老化制御」  
12:00~13:30 昼食(株同仁化学研究所「製品紹介」12:30~13:15)

### Session 2 議長 三隅 将吾 (熊本大学大学院 生命科学研究所 付属グローバル天然物科学研究センター 環境分子生理学研究室)

13:30~14:15 矢作 直也 (筑波大学医学医系 放射線ニュートリゲノミクスリサーチグループ/内分泌代謝・糖尿病内科)  
「in vivoイメージングから見てきたニュートリゲノミクスの新世界」  
14:15~15:00 杉浦 悠毅 (慶應義塾大学 医学部 医化学教室)  
「酸素添加により生成される生理活性分子の可視化」  
15:00~15:15 コーヒーブレイク

### Session 3 議長 山本 哲郎 (元熊本大学大学院 生命科学研究所)

15:15~16:00 長谷 耕二 (慶應義塾大学 薬学部 生化学講座)  
「栄養シグナルによるパイエル板リンパ球動態制御」  
16:00~16:45 大澤 毅 (東京大学先端科学技術研究センター ニュートリオミクス・腫瘍学分野)  
「ニュートリオミクスから迫るがんの病態解明と治療戦略」  
16:45~17:00 閉会の挨拶 三浦 洵 (熊本大学名誉教授)  
17:00~18:30 ミキサー

日時 2019.11.12 [火]  
10:00 ~ 17:00 (開場9:30)

場所 ホテル日航熊本5F「阿蘇」 熊本市中央区上通町2-1 主催 株同仁化学研究所 後援 株ケミカル同仁

問い合わせ 7861-2202 熊本県上益城郡益城町田原2025-5 株同仁化学研究所内「フォーラム・イン・ドージン事務局」(担当:江口)  
参加申込先 Tel:0120-489548 Fax:0120-021557 E-mail:info@dojindo.co.jp

ホームページアドレス  
URL : <https://www.dojindo.co.jp/>  
E-mail : [info@dojindo.co.jp](mailto:info@dojindo.co.jp)

フリーファックス 0120-021557  
フリーダイヤル 0120-489548  
(受付時間: 平日 9:00 ~ 17:00)  
(土・日・祝日は除く)

ドージンニュース No.170 令和元年9月13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 松野寛明 編集責任者 金子詩織 年4回発行 許可なくコピーを禁ず