

免疫・代謝

—総説—

代謝制御による腫瘍免疫の向上

岡山大学 西田 充香子・鶴殿 平一郎

—注目の研究—

セリン代謝酵素応答性蛍光プローブの開発

株式会社同仁化学研究所 平川 哲央

新製品

エクソソーム蛍光染色キット P.7

バイオフィルム形成阻害測定キット・

バイオフィルム薬剤効果測定キット P.11

細胞周期測定試薬 P.12

開発中

グルコース細胞内取り込み検出用蛍光プローブ P.7

菌二重染色キット P.10





表紙撮影：菊池市 菊池渓谷 水天宮横
菊池渓谷は東西に延びる渓谷で夏の朝
日が神秘的な光を魅せてくれる。
photo：永島俊介氏

CONTENTS

Review

代謝制御による腫瘍免疫の向上 ●—————[1]

岡山大学 西田 充香子・鶴殿 平一郎

Topics on Chemistry

セリン代謝酵素応答性蛍光プローブの開発 ●————[6]

株式会社同仁化学研究所 平川 哲央

Commercial

細胞内代謝測定キット ●—————[8]

ミトコンドリア膜電位測定キット ●—————[9]

細胞増殖・細胞毒性測定キット ●—————[12]

細胞機能解析—マイクロプレートリーダーで測定— ●—————[13]

新製品

エクソソーム蛍光染色キット ●—————[7]

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 ●—[11]

細胞周期測定試薬 ●—————[12]

開発中

グルコース細胞内取り込み検出用蛍光プローブ ●—[7]

菌二重染色キット ●—————[10]

関連製品

微生物増殖アッセイキット ●—————[10]

お役立ち

がんとグルタミン代謝 ●—————[5]

ミトコンドリア機能低下を測定する ●—————[9]

最新試薬・実験例をまとめた冊子

教材としても人気のプロトコル集 ●—————[4]

※希望納入価格には消費税等は含まれておりません。

ツイッター



@dojindoinfo

代謝制御による腫瘍免疫の向上

Metabolic intervention facilitates anti-tumor immunity



西田 充香子

岡山大学
大学院医歯薬学総合研究科
免疫学分野
助教



鵜殿 平一郎

岡山大学
大学院医歯薬学総合研究科
免疫学分野
教授

Abstract

Tumor microenvironment is a special place characterized by low oxygen, low pH, low nutrient, and high lactate concentration. The unique condition generates metabolic competition between effector immune cells and growing cancer cells, because both cell populations require particularly glucose to survive and exert their function. In this context, the metabolic intervention - elevation of glycolysis of immune cells while decreasing that of tumor cells, would bring about significant shrink of tumors. In this special review, we at first overview the energy metabolism of each immune cell as well as tumor cell, and then present our recent finding with metformin, a first line drug for type 2 diabetes mellitus (T2DM), which might provide useful metabolic intervention in tumors to achieve more effective anti-tumor effects along with the currently ongoing cancer immunotherapy.

1. はじめに

腫瘍局所は低酸素、高乳酸による低 pH に加え、低栄養な環境である。免疫細胞がその機能を発揮するためには栄養とくにグルコースを必要としている。皮肉なことに腫瘍細胞も大量にグルコースを消費し、増大する。このように腫瘍微小環境においてはエフェクター免疫細胞と腫瘍との間にグルコースの奪い合い、すなわち代謝競争が起こっている。競争に負けたエフェクター免疫細胞は次第にその機能を失い、腫瘍は増大へと向かう。このように代謝が腫瘍の運命を決定付けているということは興味深い知見である。見方を変えれば、個々の細胞の代謝を上手く制御することができれば腫瘍退縮へと導くことが可能となり、代謝制御は新たな免疫治療のターゲットとなりうる可能性がある。

本稿では腫瘍免疫に関わる細胞群の代謝について概説し、個々の細胞の代謝を制御する手段や免疫療法への応用についても紹介する。

2. 免疫細胞の代謝

細胞は大きく分けて解糖系と酸化的リン酸化 (OXPHOS)、脂質酸化 (FAO) 経路を駆動させることによってエネルギーを得ている¹⁾。細胞がどの代謝に依存してエネルギーを得るかによって細胞の種類や機能が変化する²⁾。この章では個々の細胞の代謝について説明する。

1) CD8 T 細胞

未感作な CD8 T 細胞は FAO、OXPHOS に依存しているが、抗原提示細胞である樹状細胞より抗原刺激を受けると、T 細胞受容体 (TCR) および副刺激受容体 CD28 の下流の PI3K-Akt-mTOR 経路が活性化する。mTOR は様々な代謝経路を調節し、特に mTOR の下流に存在する IRF4 分子がエフェクター CD8 T 細胞を誘導する転写因子である T-bet、Blimp-1 の発現を誘導し、さ

らに mTORC1 は糖代謝関連因子を調節する転写因子である c-Myc、HIF1 α の発現を介して、CD8 T 細胞膜上にグルコーストランスporter である Glut-1 を誘導し、その結果、グルコース代謝が亢進し、CD8 T 細胞の活性化、分化、増殖を促す^{3) 4)}。この解糖系の亢進は CD8 T 細胞がエフェクター機能を発揮する上では重要であり、実際に解糖系の律速酵素であるヘキソキナーゼ 2 (HK2) をグルコースの類似体である 2-デオキシ-D-グルコース (2-DG) で阻害するとエフェクター機能が低下する⁵⁾。また、解糖系の中間代謝産物であるホスホエノールピルビン酸 (PEP) は小胞体内へのカルシウムの再流入を抑制し、細胞外からのカルシウムの流入を亢進させ、転写因子 NFAT を核内へと移行させてサイトカイン産生を誘導する⁶⁾。さらに 3-ホスホグリセリン酸 (3-PG) はアミノ酸であるセリンへ変換され、核酸合成に使われる⁷⁾。そして解糖系から派生するペントースリン酸化経路は、核酸合成に必要なリボース 5 リン酸そして脂質合成に必要な NADPH を合成する。また NADPH には抗酸化物質である GSH を還元状態に保つ働きがあり、GSH は NFAT、mTOR 活性化の維持に関与し Myc を介して解糖系を誘導するとの報告もある⁸⁾。また、解糖系酵素である GAPDH はグルコース非存在下すなわち解糖系が抑制された状況では IFN γ の翻訳を抑制する⁹⁾。このようにエフェクター CD8 T 細胞は解糖系に依存して機能し、増殖する。また、二次応答の際に重要な記憶 CD8 T 細胞においては局所で抗原に対して速やかに応答するエフェクターメモリー CD8 T 細胞は解糖系に依存しており¹⁰⁾、二次リンパ組織に存在して長期的に抗原に応答するセントラルメモリー CD8 T 細胞は FAO、OXPHOS に依存している¹¹⁾。また、近年同定された末梢組織へ移行後、体内循環せず組織に存在し、抗原に応答するレジデントメモリー CD8 T 細胞 (T_{RM}) は脂質の取り込みが高く FAO、OXPHOS に依存している。また T_{RM} では Fatty acid binding protein 4,5 (FABP4、FABP5) の発現が亢進しており、

FABP4、FABP5 が欠損すると脂肪酸の取り込みが低下し T_{RM} の生存が阻害され、数が減少する¹²⁾。

2) CD4 T細胞

CD4 T 細胞は周囲のサイトカインの環境の違いによって異なるサブセットに分化する。IL-12、IFN γ 存在下では CD4 T 細胞は転写因子 T-bet を発現し IL-2、IFN γ を産生する 1 型ヘルパー T 細胞 (T_H1 細胞) へと分化する。T_H1 細胞はマクロファージ、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を活性化し細胞内の病原菌排除に関与しており、解糖系に依存している¹³⁾。次に IL-4 存在下では転写因子 GATA-3 を発現し、IL-4、IL-5、IL-13 を産生する 2 型ヘルパー T 細胞 (T_H2 細胞) へと分化する。T_H2 細胞は寄生虫の排除や B 細胞の抗体産生を刺激、アレルギー反応にも関与しており、解糖系に依存している¹³⁾。また、IL-6、TGF β 存在下では転写因子 ROR γ t を発現し IL-17A、IL-17F、IL-22 を産生するヘルパー T 細胞である T_H17 細胞へと分化する。T_H17 細胞は好中球の活性化、炎症性腸疾患などの自己免疫疾患の発症に関与し、解糖系に依存しており、IL-17 の産生を維持している¹³⁾。さらに、T_H17 細胞への分化においては脂肪酸合成の律速酵素である ACC1 の活性が重要とされており、ACC1 を阻害すると実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) において T_H17 細胞の分化が抑制され、症状が改善するとの報告もある^{14) 15)}。次にナイーブ CD4 T 細胞は、TGF β 、IL-2 存在下では転写因子 Foxp3 を発現し TGF β 、IL-10 を産生する制御性 T 細胞 (Treg) へと分化する。Treg は免疫抑制に関与し、腫瘍免疫においても重要な細胞である。Treg はマスター遺伝子である Foxp3 を発現しており、Foxp3 がミトコンドリアの電子伝達系を活性化し、ミトコンドリア機能を高め、Treg の代謝を OXPHOS、FAO の方向へとシフトさせる¹⁶⁾。さらに Foxp3 は c-Myc の発現を抑制し、解糖系を抑制している。逆に Treg の解糖系が亢進すると mTOR 経路の活性化依存的に Foxp3 の発現は低下し、腫瘍内での数も減少する¹⁷⁾。このように代謝とマスター転写因子 Foxp3 には密接な関係が存在する。また Foxp3 による OXPHOS の誘導は細胞内の NAD⁺/NADH の割合を増加させ、乳酸をピルビン酸に変換して、腫瘍局所の高乳酸条件下において乳酸による機能抑制効果から免れている¹⁸⁾。このように Treg は解糖系を抑制し、OXPHOS を亢進させることで腫瘍微小環境に適応している。

3) 骨髄球性細胞(マクロファージ、MDSC)

炎症型の M1 マクロファージは TNF α 、IL-12 の産生を介した抗腫瘍効果の発揮に重要な細胞であり、LPS や IFN の刺激によって HIF1 α 、mTOR の活性化を介して代謝を OXPHOS、FAO から解糖系へとシフトさせる。その一方で免疫抑制に働く非炎症型 (創傷治癒型) の M2 マクロファージは FAO、OXPHOS に依存しており、免疫抑制性サイトカインである IL-4、IL-10 を産生する¹⁹⁾。さらに腫瘍局所に存在し、免疫抑制に働く M2 型腫瘍関連マクロファージ (M2-like TAM) や骨髄由来抑制細胞 (MDSC) は OXPHOS、FAO に依存しており、それぞれの代謝が解糖系優位になると M2-like TAM は M1-like TAM に分化し、MDSC はその数が減少し、それぞれ本来の機能を失う²⁰⁾。

4) 樹状細胞、NK細胞

抗原提示細胞である樹状細胞は TLR からのシグナルを受けると PI3K-Akt 経路を駆動させ、解糖系が亢進すると、IL-12 の産生や活性化マーカーである CD86 や MHC class II の発現が上昇

する。その活性化は解糖系阻害剤である 2-DG 処置によって抑制される²¹⁾。NK 細胞も抗腫瘍免疫に重要な細胞で解糖系亢進によって IFN γ 、グランザイム B を産生し、その機能を発揮する^{22) 23)}。

3. 腫瘍の代謝

腫瘍細胞は有酸素下でも解糖系に依存してエネルギーを得ている (ワールブルグ効果)²⁴⁾。さまざまながん原遺伝子はグルコーストランスポーターの発現、そして解糖系酵素誘導し解糖系を上昇させる方向へ導いていることから腫瘍の解糖系への依存度は大きく²⁵⁾、腫瘍細胞が大量のグルコースを消費するため腫瘍微小環境は他の組織と比較してグルコース濃度が極端に低い⁶⁾。Rathmell らの報告によるとがん抑制遺伝子である VHL 遺伝子に変異のある腎細胞癌では HIF1 α が過剰発現し、腫瘍細胞の解糖系を亢進させるが、その一方で腫瘍に浸潤する CD8 T 細胞の解糖系は抑制され、さらに PD-1 の発現が上昇し、増殖や機能が低下していることを見出している²⁶⁾。さらに Chang らは主要な拒絶抗原を有する腫瘍 (Regressor : R 腫瘍) と拒絶抗原を有さない腫瘍 (Progressor : P 腫瘍) を用いて CD8 T 細胞と P 腫瘍を共培養すると CD8 T 細胞の IFN γ の産生量が低下し、この作用はグルコースを添加すると解消されることを明らかにした。グルコース消費速度は、P 腫瘍のほうが R 腫瘍よりも高いことも証明している²⁷⁾。これらの報告から悪性度の高い腫瘍は解糖系がより亢進しており、低グルコースの腫瘍微小環境下ではエフェクター細胞が十分にグルコースを利用できず、解糖系が抑制され、疲弊状態に陥っていることが示唆されている。また解糖系によって生じた乳酸は免疫細胞を抑制するだけでなく、腫瘍細胞自身がモノカルボン酸トランスポーターである MCT1 を介して乳酸を取り込み、乳酸からピルビン酸へ変換して TCA 回路を回して増

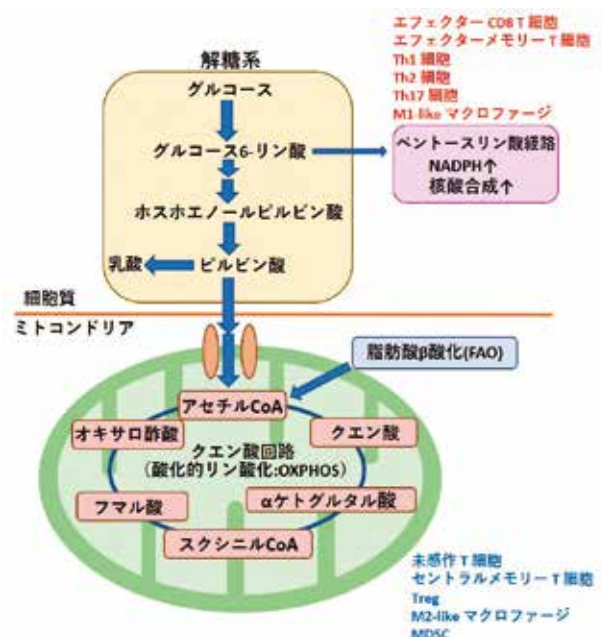


図 1 免疫細胞の種類と代謝経路

エフェクター細胞とよばれる種々の細胞種集団は解糖系に依存する。その一方、免疫寛容や創傷治癒に関係する細胞集団は脂肪酸酸化 (クエン酸回路と酸化的リン酸化 (OXPHOS)) に依存する。

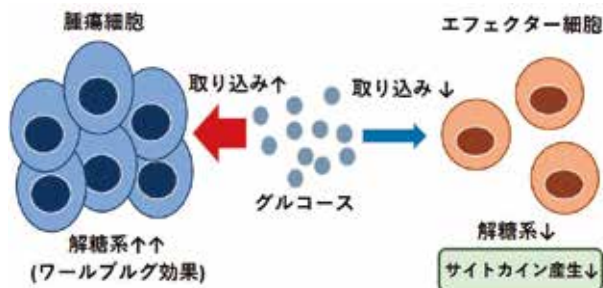


図2 腫瘍微小環境における腫瘍細胞とエフェクター細胞の代謝競合
腫瘍微小環境下は低グルコースに加え、腫瘍細胞のワールブルグ効果によってグルコースを奪われ、腫瘍内のエフェクター細胞は次第にその機能を失う。

維持に使用している²⁸⁾。興味深いことに腫瘍の転移にはOXPHOS、FAOが関与しており転移細胞はPGC1 α の発現が高く、ミトコンドリア機能を亢進させてOXPHOSに依存してエネルギーを得ており、腫瘍細胞は置かれた状況に応じて代謝を使い分けることで生存を図っている²⁹⁾。

さらに腫瘍組織に存在する脂肪細胞からペプチドホルモンであるレプチンが産生され、このレプチンがCD8 T細胞のSTAT3を活性化し、代謝を解糖系からFAOへとシフトさせ、IFN γ 産生を抑制し、腫瘍モデルにおけるCD8 T細胞を介した抗腫瘍効果を消失させる³⁰⁾。

このように腫瘍組織を構成する脂肪細胞も免疫細胞の代謝に影響を与えているという知見は大変興味深い。

ここまで免疫細胞と腫瘍細胞における代謝について概説したが、個々の細胞を代謝で大きく分類すると抗腫瘍効果に必要な細胞(エフェクター細胞)は解糖系、免疫抑制する免疫寛容を起こさせる細胞はOXPHOS、FAOに大部分は依存していることが分かる(図1)。

周知のように腫瘍細胞も解糖系に依存しており、抗腫瘍効果に必要なエフェクター細胞との間ではグルコースを巡る代謝競合は必然である(図2)。しかし、腫瘍局所は複雑な血管である腫瘍血管が多く造成しており物質交換がうまく機能しない。よってグルコースを始めとした各種の栄養素、および酸素が腫瘍局所に到達できない。さらに、多くの免疫細胞の浸潤も十分にできない。すなわちエフェクター免疫細胞の浸潤、樹状細胞(B7を発現し、T細胞のCD28と会合)の浸潤も低下する³¹⁾。従い、腫瘍内で如何に効率的にエフェクター免疫細胞がグルコースを利用し解糖系を亢進させることができるか、また、正常な腫瘍血管を構築できるかが抗腫瘍効果の発揮には重要な鍵となってくる。次に代謝制御による抗腫瘍効果の向上について説明する。

3. 代謝制御による治療

これまで述べてきた背景から腫瘍細胞の解糖系を阻害するため2-デオキシグルコース(2-DG)などの解糖系阻害剤を用いたがん治療研究も行われてきた³²⁾。しかしエフェクター細胞も解糖系を利用しており、腫瘍だけでなくエフェクター細胞の解糖系も低下させてしまう可能性があり、その選択性が問題となった。そのような中、2018年に単糖類のD-マンノースがホスホマンノースイソメラーゼ(PMI)の発現が高い腫瘍に限り、その解糖系を抑制するといった報告がなされ、ある特徴を持つ腫瘍に特異的な治療法も出てきた³³⁾。さらに腫瘍血管内皮の代謝制御も重要との報告もある。腫瘍血管内皮は解糖系活性化酵素のPFKFB3の

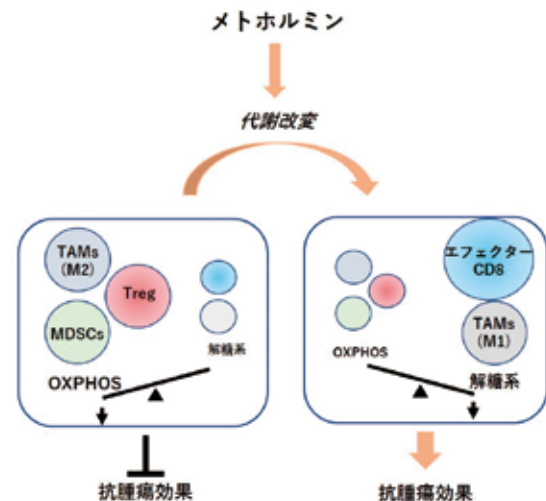


図3 メトホルミンによる腫瘍微小環境の代謝改変と抗腫瘍免疫の活性化

参考文献(20)を一部改変

メトホルミンは腫瘍微小環境に存在する免疫細胞の代謝を解糖系へと変化させ、抗腫瘍効果の発揮に優位な方向へ導く。

発現が高く、解糖系の亢進により血管内皮のバリア機能を低下させ、腫瘍の浸潤・転移を促進する。事実、PFKFB3の阻害剤を処置すると血管内皮のバリア機能も正常化し、転移も抑制される³⁴⁾。腫瘍の制圧には腫瘍細胞や免疫細胞だけでなく、腫瘍組織を構成する細胞集団を含めて考える必要がある。

このようにさまざまな代謝制御法が報告される中、免疫細胞の解糖系を上昇させ、その一方で、腫瘍細胞の解糖系を抑制し、腫瘍微小環境全体の代謝を改変させるような代謝制御法は未だ確立されていない。我々はこれまでに2型糖尿病治療薬メトホルミンの誘導する抗腫瘍効果の研究からメトホルミンによる解糖系の亢進が、腫瘍局所のCD8 T細胞の機能を高め³⁵⁾、Treg、MDSCにおいては数、機能を低下させ、さらにM2-like TAMをM1-like TAMへとシフトさせることを明らかにしてきた^{17) 20)}(図3)。しかしメトホルミンが腫瘍細胞の代謝に及ぼす影響についてはまだ不明な点が多く、現在、検討中であるがこれまでに明らかになってきたことを一部、紹介したい。

4. メトホルミンによる免疫細胞と腫瘍細胞の代謝改変

メトホルミンを処置したマウスの腫瘍塊からCD8 T細胞と腫瘍細胞を回収し、解糖能を評価するためグルコースのトランスポーターであるGlut-1の発現そしてグルコースのアナログである2-NBDGの取り込み能を検討したところ、興味深いことにメトホルミン処置によってCD8 T細胞のGlut-1、2-NBDGの取り込みは上昇していたが、腫瘍細胞においてはGlut-1、2-NBDGの取り込みはむしろ低下するということが分かった。さらにメトホルミンと抗PD-1抗体併用治療においてはさらにその傾向が強く、驚くべきことにメトホルミンは免疫不全マウスに移植した腫瘍細胞の解糖能には影響を及ぼさないことも明らかとなってきた。すなわちメトホルミンによる腫瘍細胞の代謝改変には免疫系が必要であることを示唆しており、そのメカニズムについては検討中であるが、メトホルミンが如何にして免疫細胞と腫瘍細胞に

において代謝を逆に制御することが可能なのか、この謎を解明できれば、細胞選択的代謝制御法の開発に繋げることが可能になり、腫瘍を制圧する方法を見出すことができるのではないかと考えている。

5. おわりに

腫瘍局所における免疫細胞の機能不全は従来、慢性的な抗原刺激によるものとされていたが、それに加え、腫瘍微小環境での免疫細胞と腫瘍細胞の代謝競合も重要な一つの理由と考えられる。腫瘍微小環境に存在する異なる細胞集団の代謝を腫瘍退縮に有意な方向へ代謝を制御できれば腫瘍免疫の向上にもつながり、さらに細胞の代謝状態を評価することで免疫療法の効果判定や予後予測にも応用できる可能性がある。また、あらゆる組織、臓器においては、これを構成する細胞集団の代謝はある一定の規律と方向性をもって制御されているはずである。逆にいえば疾患とその病因は、個々の細胞代謝変化(異常)とリンクしているはずである。その意味で腫瘍免疫だけではなく、あらゆる疾患病態を代謝という新たな尺度で見直すという作業は、今後ますます重要になってくると考えられる。

[参考文献]

- 1) M. D. Buck et al., *J. Exp. Med.*, **2015**, 212(9), 1345-1360.
- 2) E. L. Pearce and E. J. Pearce, *Immunity*, **2013**, 38(4), 633-643.
- 3) S. Yao et al., *Immunity*, **2013**, 39, 833-845.
- 4) A. L. Doedens et al., *Nat. Immunol.*, **2013**, 14, 1173-1182.
- 5) M. Sukumar et al., *J. Clin. Invest.*, **2013**, 123, 4479-4488.
- 6) P. C. Ho et al., *Cell*, **2015**, 162(6), 1217-1228.
- 7) E. H. Ma et al., *Cell Metab.*, **2017**, 25(2), 345-357.
- 8) T. W. Mak et al., *Immunity*, **2017**, 46(6), 1089-1090.
- 9) C. H. Chang et al., *Cell*, **2013**, 153(6), 1239-1251.
- 10) P. M. Gubser et al., *Nat. Immunol.*, **2013**, 14(10), 1064-1072.
- 11) G. J. van der Windt et al., *Immunity*, **2012**, 36(1), 68-78.
- 12) Y. Pan et al., *Nature*, **2017**, 543(7644), 252-256.
- 13) R. D. Michalek et al., *J. Immunol.*, **2011**, 186(6), 3299-3303.
- 14) L. Berod et al., *Nat. Med.*, **2014**, 20(11), 1327-1333.
- 15) Y. Endo et al., *Cell Rep.*, **2015**, 12(6), 1042-1055.
- 16) D. Howie et al., *JCI Insight*, **2017**, 2(3), e89160.
- 17) Y. Kunisada et al., *EbioMedicine*, **2017**, 25, 154-164.
- 18) A. Angelin et al., *Cell Metab.*, **2017**, 25(6), 1282-1293.
- 19) S. Galván-Peña L. A. O'Neill, *Front. Immunol.*, **2014**, 5, 420.
- 20) T. Uehara et al., *Int. Immunol.*, **2019**, 31(4), 187-198.
- 21) B. Everts et al., *Nat. Immunol.*, **2014**, 15(4), 323-332.
- 22) I. Terrén et al., *Front. Immunol.*, **2019**, 10, 2278.
- 23) R. P. Donnelly et al., *J. Immunol.*, **2014**, 193(9), 4477-4484.
- 24) M. G. Vander Heiden et al., *Science*, **2009**, 324(5930), 1029-1033.
- 25) C. Muñoz-Pinedo et al., *Cell Death Dis.*, **2012**, 3(1), e248.
- 26) P. J. Siska et al., *JCI Insight*, **2017**, 2(12), 93411.
- 27) C. H. Chang et al., *Cell*, **2015**, 162, 1229-1241.
- 28) B. Faubert et al., *Cell*, **2017**, 171(2), 358-371.
- 29) V. S. LeBleu et al., *Nat. Cell Biol.*, **2014**, 16(10), 992-1003, 1-15.
- 30) C. Zhang et al., *Cell Metab.*, **2020**, 31(1), 148-161.
- 31) M. Mazzone and G. Bergers, *Annu. Rev. Physiol.*, **2019**, 81, 535-560.
- 32) H. Pelicano et al., *Oncogene*, **2006**, 25(34), 4633-4646.
- 33) P. S. Gonzalez et al., *Nature*, **2018**, 563(7733), 719-723.
- 34) A. R. Cantelmo et al., *Cancer Cell*, **2016**, 30(6), 968-985.
- 35) S. Eikawa et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2015**, 112(6), 1809-1814

[著者プロフィール]

氏名：西田 充香子

所属：岡山大学

大学院医歯薬学総合研究科 免疫学分野

〒700-8558

岡山県岡山市北区鹿田町 2-5-1

Tel : 086-235-7188

E-mail : m-nishida@okayama-u.ac.jp

出身学校：岡山大学

学位：博士(医学)

現在の研究テーマ：メトホルミンによる腫瘍微小環境の代謝改変メカニズムの解明

氏名：鵜殿 平一郎

所属：岡山大学

大学院医歯薬学総合研究科 免疫学分野

〒700-8558

岡山県岡山市北区鹿田町 2-5-1

Tel : 086-235-7187

E-mail : udono@cc.okayama-u.ac.jp

出身学校：長崎大学

学位：博士(医学)

現在の研究テーマ：代謝から読み解く腫瘍免疫学

最新試薬・実験例をまとめた冊子 教材としても人気のプロトコル集

測定の原理・トラブルシューティング・サンプル毎の前処理例をまとめたプロトコルを準備しております。これから実験を始める方、すでに実験を進められている方へも参考になる情報をまとめています。

- ・細胞機能解析冊子(第3版)
- ・食品機能性評価・微生物検出(第2版)
- ・細胞増殖測定・細胞染色プロトコル
- ・はじめての細胞内Ca²⁺測定
- ・はじめての抗体標識
- ・はじめての酸化ストレスマーカー測定



試薬パンフレット 同仁

検索

郵送をご希望の方は下記までお問い合わせ下さい。

info@dojindo.co.jp

がんとグルタミン代謝

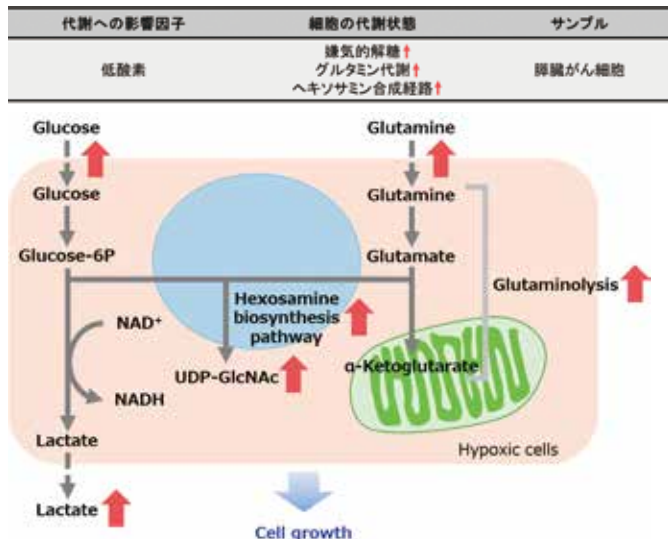
がん細胞では、グルタミンを基質に α -ケトグルタル酸を供給する経路である「グルタミノリシス」の亢進が知られており、これに関連して種々の報告がされています。

例えば、がん遺伝子である KRAS はグルコースとグルタミン代謝を制御しているとされ¹⁾、また、膵臓がんの亢進には低酸素状態がグルコースおよびグルタミン代謝の活性化に関係し²⁾、更には、グルタミン代謝が乳がん細胞の侵襲性を促進させる²⁾ など、グルタミン代謝とがんの関わりを解明する研究が盛んに行われています。

下記に、がん細胞におけるグルタミン代謝と「低酸素」「オートファジー」に関する報告例を紹介します。

低酸素とがん

膵臓がんにおける低酸素下での解糖系の亢進は、ヘキサミン合成および生存を維持



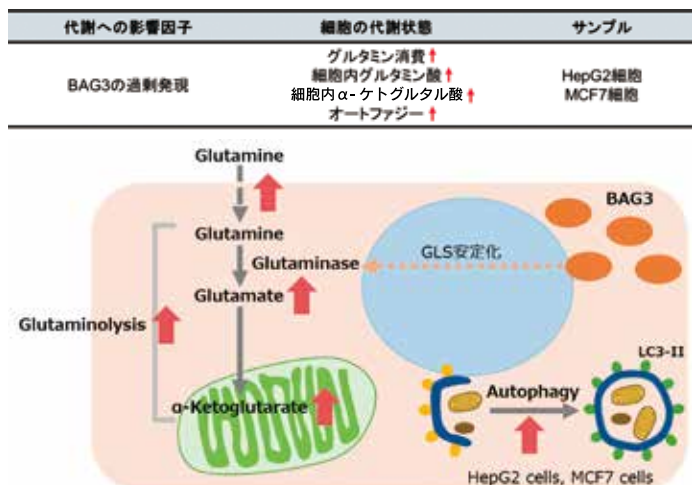
低酸素状態になった膵臓がん細胞は、生存と細胞増殖を維持するため、酸化的リン酸化を促進する遺伝子の阻害を介した解糖系遺伝子の転写を活性化する。

これは、低酸素誘導因子である HIF1 によって促進され、これにより、グルコース消費および乳酸産生が増加する。

また、ヘキサミン合成経路（HBP 経路）を活性化させ生存を維持しようとするため、グルタミノリシスが亢進する。グルコースおよびグルタミンを炭素源として使用する HBP 経路が活性化することで、タンパク質の O-GlcNAc 修飾が増加すること、さらに、低酸素状態下にある膵臓がん細胞が産生する乳酸が、隣接するがん細胞の成長を促進することにより、がん細胞の生存率および増殖が維持されることが示唆されている³⁾。

グルタミン代謝とオートファジー

BAG3 によるグルタミナーゼの安定化を介したオートファジーとグルタミノリシスの促進



BAG3 は、アポトーシスや細胞分化、マクロオートファジー等の様々な細胞機能の制御に関与するタンパク質である。

BAG3 が過剰発現した細胞では、グルタミナーゼ (GLS) のスクシニル化が促進されることにより、ユビキチン化とそれに続くプロテアソーム分解が防がれ、GLS が安定化する。GLS が安定化することで、グルタミン分解が促進されるため、グルタミン消費が亢進し、細胞内グルタミン酸およびグルタミン代謝産物である α -ケトグルタル酸が増加する。

グルタミン分解の促進により生じる培養液中のアムモニアは、オートファジーの活性化に寄与する。

グルタミノリシスが亢進しているがん細胞では、この BAG3 ががん治療の標的になる可能性が示唆されている⁴⁾。

[参考文献]

- 1) Gaglio, D. et al., *Mol. Syst. Biol.*, **2011**, 7, 523.
- 2) Dornier, E. et al., *Nat. Commun.*, **2017**, 8, 2255.
- 3) Guillaumond, F. et al., *PNAS*, **2013**, 110, 3919.
- 4) Zhao, S. et al., *Cell Death & Disease*, **2019**, 284(10).

関連製品情報

グルタミン測定キット： P8, P13
グルタミン酸測定キット： P8, P13
オートファジー検出キット： P13

Topics on Chemistry

セリン代謝酵素応答性蛍光プローブの開発

株式会社同仁化学研究所 未来技術開発部 平川 哲央

細胞は、外部から栄養（グルコース、アミノ酸、脂質など）を取り込み、さまざまな細胞内の代謝系を介して細胞の維持や増殖のためのエネルギー源や材料に変換し、利用している。また、代謝産物が細胞機能を厳密に制御していることが明らかとなり、細胞内代謝を理解することが重要とされている。近年、メタボローム解析や遺伝子操作などの技術の進歩により、細胞内の複雑な代謝経路が解明されている¹⁾。さらに、がん特異的な細胞内代謝は注目を浴び、新たな創薬標的候補として日々研究が進められている。

セリンヒドロキシメチル転移酵素（SHMT）は、アミノ酸の一種であるセリンをグリシンに変換する酵素であり、葉酸を介したアミノ酸や核酸合成に関わる One Carbon Metabolism の重要な酵素の一つである。この酵素は細胞増殖に寄与するため、がんやマラリアなど多くの疾病のバイオマーカーや治療薬の標的となっている。しかし、同じく One Carbon Metabolism に関わる重要なジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）やチミジル酸合成酵素（TS）阻害剤（メトトレキサート、5-FU）は、抗がん剤として長年使用されているのに対し（図 1）^{2), 3), 4)}、SHMT に関しては、未だ有用な阻害剤が開発されていない。

そこで本稿では、SHMT の酵素活性を簡便にモニタリングできる新規の蛍光プローブを用いた SHMT 阻害剤のスクリーニングについて紹介する⁵⁾。

SHMT は上記のように、生化学的、医学的に重要であるにも拘らず、簡便かつ直接的に活性を測る手段が確立していない。その理由として、SHMT の働きは、セリンからグリシンへの単純な反応であることに加え、酵素の基質結合部位が狭く設計可能な分子構造が限られていることが挙げられる。山東らは、SHMT のセリン-グリシンの変換反応には葉酸が必要であるが、芳香族 β -ヒドロキシアミノ酸の変換には不要であることを見出した。さらに、後者の反応がレトロアルドール反応であること^{6), 7)}を利用して、蛍光プローブ β -(*p*-dimethylaminonaphthyl)-serine（図 2）を開発した。

この蛍光プローブ自体は 435 nm の青色蛍光を発するが、SHMT との反応により 535 nm の緑色蛍光を有する



図 2 SHMT 蛍光プローブ ($\lambda_{ex} = 390$ nm)

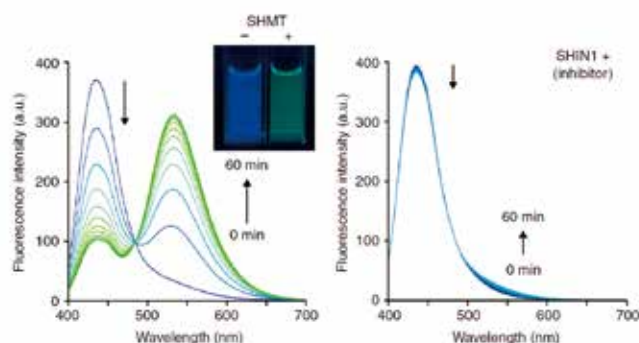


図 3 SHMT 存在下での蛍光スペクトルの変化⁵⁾

p-dimethylamino-naphthaldehyde へと変換される（図 3）。山東らはこの蛍光プローブを用いて、東京大学創薬機構が保有する約 21 万種類の化合物ライブラリーの中から、SHMT 阻害剤の候補となる 2 種類の新規化合物を見出すことに成功している。得られた化合物は互いに類似性のないユニークな構造であり、有用な SHMT 阻害剤開発の手掛かりになると考えられる。さらに山東らは、hydroxycoumarin 骨格の発蛍光型プローブや ¹⁹F-NMR 用のプローブを開発し、プローブ設計の柔軟さと蛍光プローブでは適用が困難な *in vivo* 実験への適用の可能性を示している。今回紹介した SHMT 応答性プローブは、SHMT の作用機序解明や疾患の診断、および新たな抗がん剤や抗マラリア薬の開発への応用が期待される。

[参考文献]

- 1) Matsumoto, M. et al., *Nat. Methods*, **2017**, 14, 251-258.
- 2) Locasale, J. W. et al., *Nat. Rev. Cancer*, **2013**, 13, 572-583.
- 3) Jain, M. et al., *Science*, **2012**, 336, 1040-1044.
- 4) Paone, A. et al., *Cell Death Dis.*, **2014**, 5, e1525.
- 5) Nonaka, H. et al., *Nat. Commun.*, **2019**, 10, 876.
- 6) Florio, R. et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, **2011**, 1814, 1489-1496.
- 7) Webb, H. K. et al., *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270, 17204-17209.

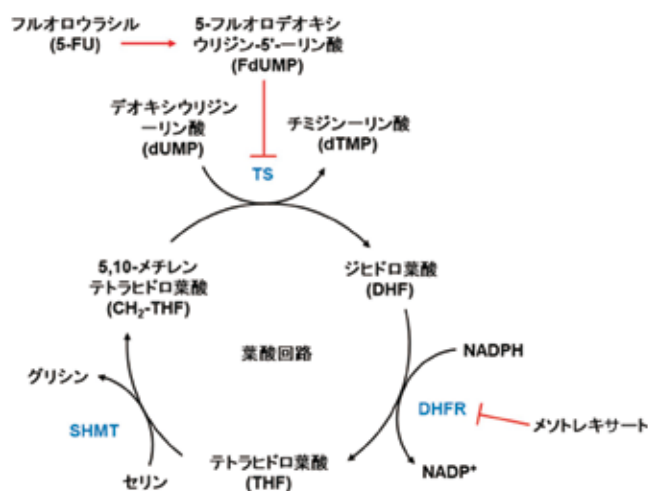


図 1 葉酸回路と各酵素の役割

開発中

グルコース細胞内取り込み検出用蛍光プローブ

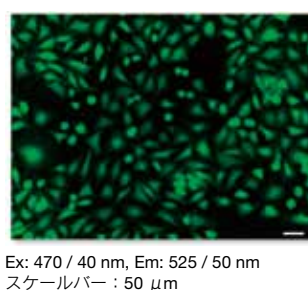
GLucose Uptake Probe - Green (GLUP-G)

細胞の重要なエネルギー源であるグルコースの細胞内への取り込み能力は、細胞の代謝活性の指標の一つとして利用されています。一般的にグルコースの細胞内取り込みをイメージングする試薬として 2-NBDG (2-deoxy-2-[(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl) amino]-D-glucose) が、広く用いられています。しかし、蛍光強度が弱く、感度が低いという課題がありました。そこで小社では高感度にグルコースの細胞内取り込みを可視化できる新規の蛍光試薬 GLUP-G を開発しました。GLUP-G は 2-NBDG に比べ蛍光強度が強く、グルコースの細胞内取り込みを明瞭にイメージングすることができます。またプレートリーダーを用いた測定も可能です。

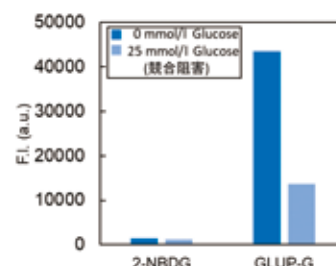
< 蛍光強度の比較 >



< 蛍光顕微鏡による観察 >



< プレートリーダーによる測定 >



細胞: A549
使用培地: DMEM
(0, 25 mmol/l Glucose)
色素濃度: 100 μmol/l
Ex / Em: 488 / 520 nm
測定: 下方励起、下方検出

ご興味のある方は小社カスタマーサポート (E-mail: info@dojindo.co.jp Free Dial: 0120-489548) までご連絡ください。

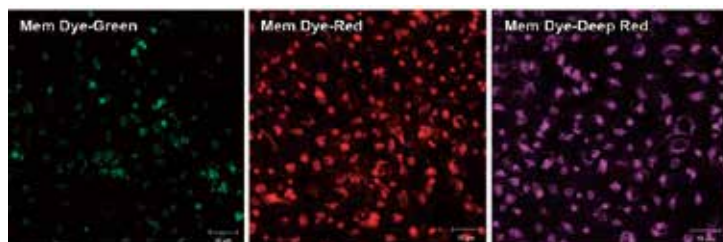
新製品

エクソソーム蛍光染色キット

ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Green, Red, Deep Red ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green, Red, Deep Red

ExoSparkler シリーズは、精製されたエクソソームの膜またはタンパク質を染色し、細胞に取り込まれるエクソソームをイメージングすることができます。また、一般的なエクソソーム染色試薬の課題である色素自体の凝集を起こさず、染色前後でのエクソソームのサイズ分布や表面電荷状態を変化させないため、より正確にエクソソームの動態を可視化できます。

< 細胞へのエクソソーム取り込み実験例 >



* Mem Dye: ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit

既存製品との比較



紫: 小社 Mem Dye-Deep Red
緑: S 社製品 P

< 実験条件 >

超遠心法で精製したエクソソーム (タンパク質量として 10 μg) を各色素で染色し HeLa 細胞 (1.25 × 10⁴ cells) に添加、24 時間インキュベートし、洗浄後の蛍光を観察した。

< 検出条件 >

Green: Ex 488 nm / Em 490 - 540 nm、Red: Ex 561 nm / Em 570 - 640 nm
Deep Red: Ex 640 nm / Em 640 - 760 nm

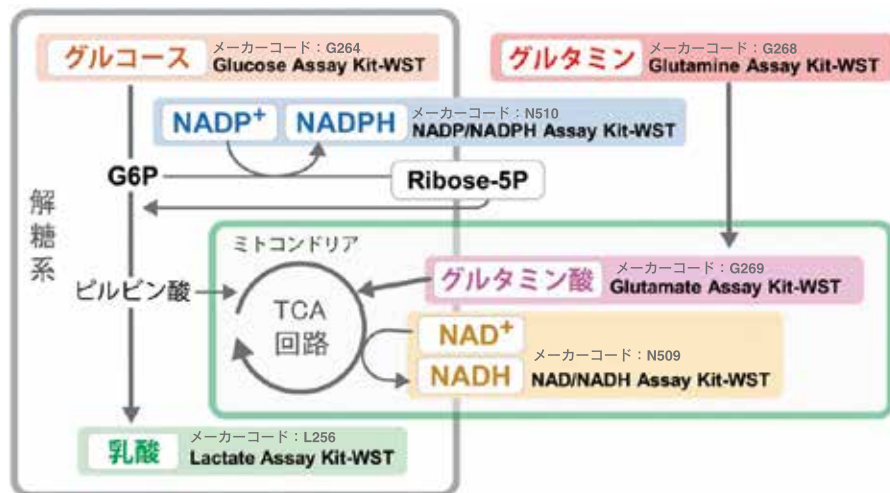
品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Green	5 samples	25,000	EX01
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Red	5 samples	25,000	EX02
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red	5 samples	25,000	EX03
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green	5 samples	20,000	EX04
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Red	5 samples	20,000	EX05
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Deep Red	5 samples	20,000	EX06

既存試薬との性能の違いや実験例は
小社 HP よりご覧いただけます。

エクソソーム 同仁 検索

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)⁺/NAD(P)H、グルタミン、グルタミン酸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。



論文増えます!! 学術情報も随時更新

実際に役立つ学術情報をマップや図式、引用文献を交えてご紹介します。

主な掲載情報

- ・低酸素とがん
- ・糖尿病疾患：高血糖状態によるポリオール代謝の亢進
- ・老化関連疾患と乳酸、NAD⁺の関係
- ・がんとグルタミン代謝
- ・オートファジーとグルタミン代謝
- ・グルタミン代謝と細胞老化

詳しくは Web で！

これから代謝 同仁 検索

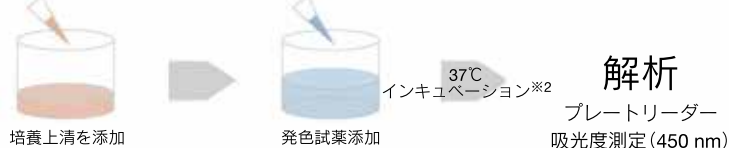
測定操作

細胞を準備



グルタミン グルタミン酸 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※1



※1 グルコース、乳酸：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。

※2 インキュベーション時間：グルタミン、グルタミン酸、グルコース、乳酸：30 分、NAD(P)⁺/NAD(P)H 60 分

グルタミン グルタミン酸 NADP⁺/NADPH NAD⁺/NADH の測定手順

キット同梱の除タンパク質用チューブと細胞溶解バッファーにより前処理が簡便



1 キットあたり測定可能なサンプル数 (n = 3 で標準サンプル 8 点で検量線を作成した場合) グルタミン、NAD(P)⁺/NAD(P)H：12 サンプル グルタミン酸：24 サンプル

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
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

ミトコンドリア機能低下を測定する

薬剤刺激によるミトコンドリア膜電位と細胞内代謝の変化

ミトコンドリア電子伝達系の阻害実験

エネルギー産生のもととして重要な役割を果たしているミトコンドリアですが、下記実験ではミトコンドリアの機能阻害剤である Antimycin (50 nmol/l) を Jurkat 細胞に添加し、ミトコンドリア膜電位と解糖系の変化を確認しました。



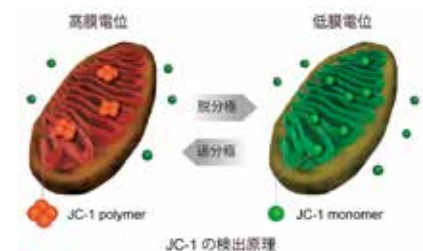
ミトコンドリア膜電位測定キット

JC-1 MitoMP Detection Kit

ミトコンドリアは、ATP 等のエネルギー産生のもとであり、その活性の変化や機能障害ががんや老化、神経変性疾患などと密接に関連しています。そのため、ミトコンドリアの状態を把握することは重要であり、その指標としてエネルギー産生に伴い生じる膜電位差が評価されています。

<測定原理>

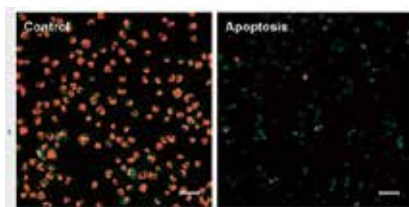
ミトコンドリアが正常で膜電位が保たれた状態では JC-1 が凝集し赤色の蛍光を発生し、膜電位が低下すると JC-1 が単量体として存在し緑色の蛍光を発生します。この赤色と緑色の蛍光強度比により、ミトコンドリア膜電位の変化を評価することができます。



<各種機器による解析例>

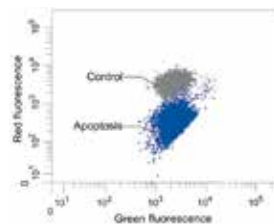
Jurkat 細胞をアポトーシス誘導剤 (Staurosporine) で処理し、本キットを用いて染色した後、蛍光顕微鏡、フローサイトメーター、プレートリーダーにより解析しました。

蛍光顕微鏡によるイメージング



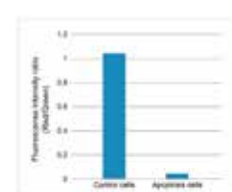
〈検出条件〉
Green: Ex 488 nm / Em 500-550 nm
Red: Ex 561 nm / Em 560-610 nm

フローサイトメーターによる解析



〈検出条件〉
Green: Ex 488 nm / Em 515-545 nm
Red: Ex 488 nm / Em 564-604 nm

プレートリーダーを用いたアッセイ



〈検出条件〉
Green: Ex 485 nm / Em 525-545 nm
Red: Ex 535 nm / Em 585-605 nm

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

キットを使用した最新論文は小社 HP よりご覧いただけます。

JC-1 同仁 検索

開発中

菌二重染色キット

試薬を加えるだけで殺菌効果を複数の指標で評価できるキットを開発中です。

<なぜ複数の指標で評価するのか>

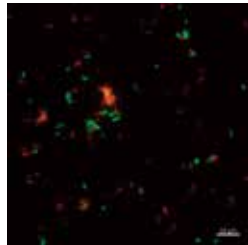
抗菌剤等の菌に対する効果を評価する場合、培養法によるコロニー形成単位（CFU）の確認や蛍光染色試薬を用いた多重染色法が広く用いられています。近年では特に感染症における薬剤耐性菌の出現や損傷菌が引き起こす食中毒等の問題を受けて、抗菌性評価の信頼性を高めることを目的に、単一指標ではなく複数の指標で薬剤等の抗菌性を評価する必要性が高まっています。

また、日本国内では2020年の6月から食品を扱う全事業者が対象となるHACCP（危害分析重要管理点）を義務化する法案が施行され、1年の猶予期間を経て完全制度化されることから、特に飲食物品の製造分野では菌検査の簡素化ならびに迅速化の需要が高まっています。

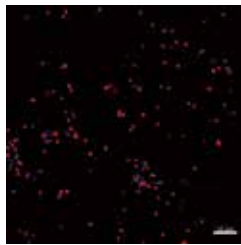
<キットの特長>

- ・菌懸濁液に染色試薬を添加するだけ
- ・菌の酵素活性や呼吸活性など、複数の指標で薬剤効果を評価することが可能
- ・培養法と比較して菌の検出に大幅な時間短縮が可能

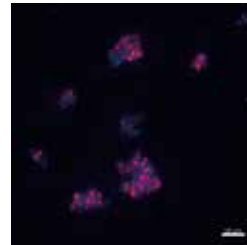
<染色例>



大腸菌の染色例
酵素活性有（緑）、膜損傷有（赤）



大腸菌の染色例
呼吸活性有（赤）、全菌（青）



黄色ブドウ球菌の染色例
呼吸活性有（赤）、全菌（青）



黄色ブドウ球菌の染色例
膜損傷有（赤）、全菌（青）

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（E-mail: info@dojindo.co.jp Free Dial: 0120-489548）

関連製品

微生物増殖アッセイキット

Microbial Viability Assay Kit-WST

<特長>

- ・評価にかかる時間を大幅に短縮
- ・生菌の活性評価を濁度から色の变化へ

本キットに含まれる還元発色剤WST-8は、電子メディエーターを介して微生物内で生成するNAD(P)Hによって還元され発色します。還元されたWST-8ホルマゼン量は微生物の代謝活性に比例しており、吸光度を測定することで、微生物の生存率や活性度を簡便に測定することができます。

<操作>

96 well プレートに菌懸濁液を準備し、試薬を添加。



微生物懸濁液に試薬を添加



インキュベーター内で発色反応



吸光度検出

従来法との比較・関連データを追加しました

M439 同仁化学 **検索**

Webページ
リニューアル!

<従来法との比較> * 菌種によって最適条件は異なります。

	従来法		本方法
	コロニー形成法	濁度法	WST 法
所要時間	24 時間以上	18-24 時間	約 8 時間* (培養 6 時間) 発色 2 時間)
特徴	・標準法 ・操作が煩雑	・マイクロプレートアッセイが可能 ・代謝活性は見えない	・短時間でのマイクロプレートアッセイが可能 ・代謝活性を指標とする

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Microbial Viability Assay Kit-WST	100 tests 500 tests	6,000 21,300	M439

新製品

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

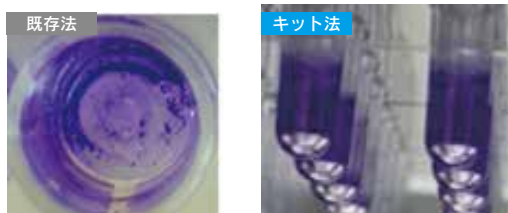
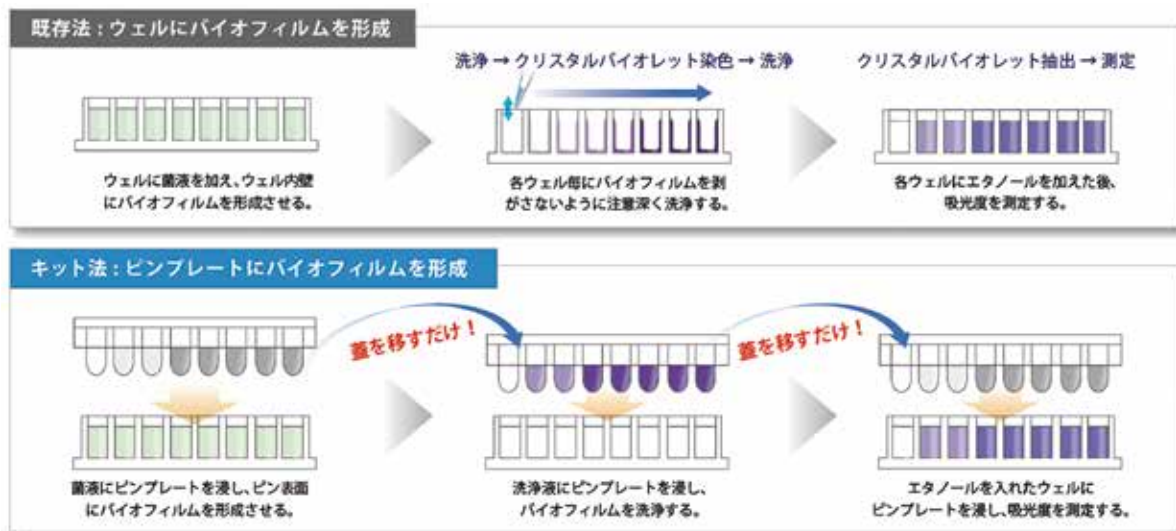
Biofilm Viability Assay Kit

<特長>

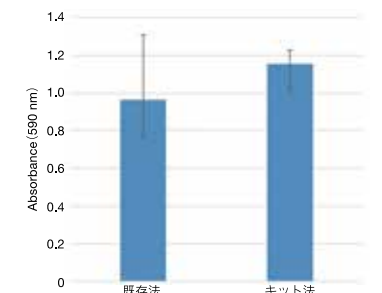
- ・マイクロプレートの蓋に固定したピンにバイオフィームを形成させる手法で、洗浄・染色・発色操作が簡便
- ・バイオフィームが剥がれ難く均一に形成可能
- ・多検体処理が可能

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。

既存法はマイクロプレートの底にバイオフィームを形成するため、菌の培養に伴う培地交換や、染色工程前後の洗浄作業に多くの手間を要し、バラツキ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、培地交換や染色工程が蓋を移すだけで完了し、操作が非常に簡便です。



既存法はバイオフィームが剥がれている箇所があるが、キット法では、均一に形成されている。



クリスタルバイオレット法によるばらつきと比較

菌種：S. aureus
各 n = 8 の平均

	測定項目	測定対象	測定原理	測定波長	製品名
STEP 1	バイオフィームの形成量測定 ⇒ まず、このキットからスタート！	生菌・死菌・細胞外多糖	CV 法	590 nm	Biofilm Formation Assay Kit (メーカーコード：B601)
STEP 2	バイオフィーム内の生菌の代謝活性測定 ⇒ 形成量測定ができれば、このキット！	生菌	WST 法	440-480 nm	Biofilm Viability Assay Kit (メーカーコード：B603)

品名	容量	希望納入価格(¥)	メーカーコード
Biofilm Formation Assay Kit	100 tests	16,300	B601
Biofilm Viability Assay Kit	100 tests	18,700	B603

新製品

細胞周期測定試薬

Cell Cycle Assay Solution Blue Cell Cycle Assay Solution Deep Red

<特長>

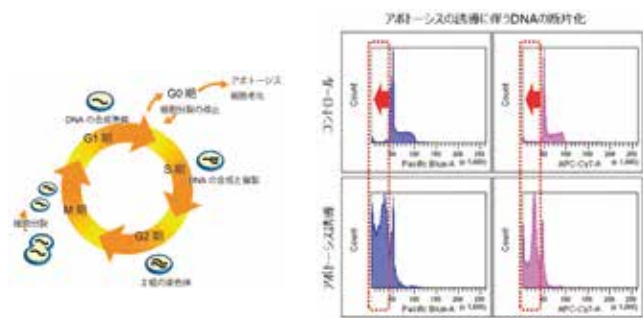
- ・細胞の固定化、RNase 処理が不要で試薬を添加するだけ
- ・405 nm、633 nm のレーザーで励起が可能

一般的に使用される Propidium Iodide (PI) を用いた手法と比較して、本製品は高い細胞膜透過性と DNA 選択性を有する色素を使用しているため、細胞懸濁液に試薬を添加するだけで測定が可能です。

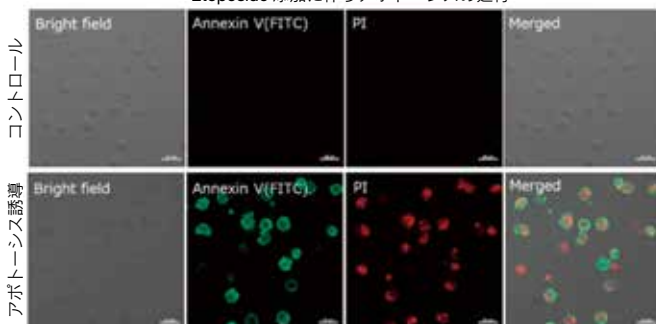
<測定例>

アポトーシス誘導による DNA の断片化

アポトーシスを誘導することが知られている Etoposide を HL-60 細胞へ添加後、アポトーシスの進行を Annexin V, FITC Conjugate および -Cellstain®- PI solution (メーカーコード: P378) でイメージングし、DNA の断片化を本製品によるフローサイトメトリーで確認しました。



Etoposide 添加に伴うアポトーシスの進行



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

細胞増殖・細胞毒性測定キット

Cell Counting Kit-8

<特長>

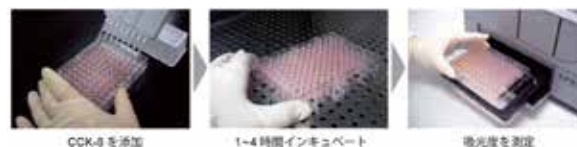
- ・試薬を添加するだけの簡単な操作
- ・低毒性
- ・試薬の安定性が高い



Cell Counting Kit-8 (CCK-8) は、細胞内代謝活性を指標に生細胞を測定するキットです。同仁化学研究所が開発した色素 WST-8 を採用したことにより、簡便な操作性、高い試薬の安定性、細胞への低毒性を実現しました。これにより従来より使われている MTT 法に代わる試薬として、世界中の研究で広く使われています。

<操作>

試薬を直接培養液に加えるだけで、生細胞数に応じた培地の色の変化がみられます。



製品情報▶ P13

Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST

<特長>

- ・測定毎の試薬調製が不要
- ・試薬の安定性が高い
- ・2 種の測定法が選べる



Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST は、細胞から培地中に放出された乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性を測定することにより細胞傷害を測定するキットです。

LDH は細胞質に存在する酵素で、細胞膜が傷害を受けると培地中に放出されます。放出された LDH は安定であるため、死細胞または細胞膜に傷害を受けた細胞数を測る指標として広く測定されています。

<測定法の選択>



製品情報▶ P13

Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit

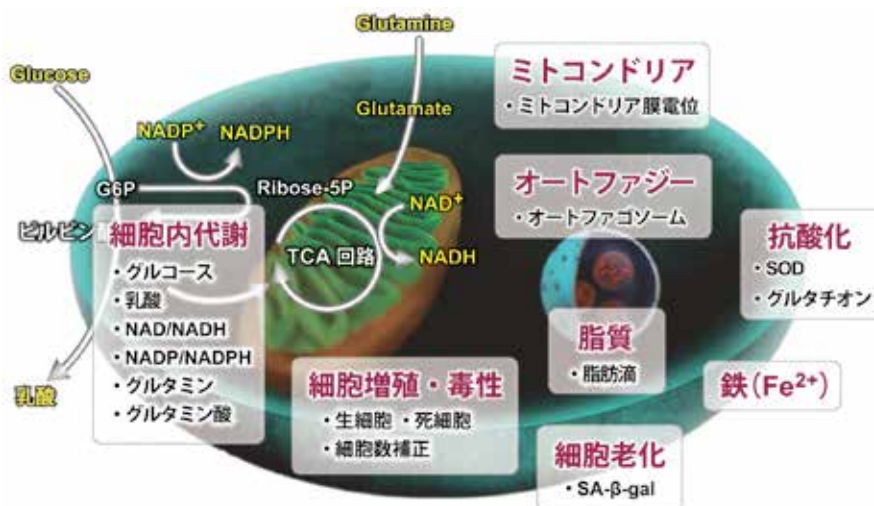
Cell Counting Kit-8, Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST
のセット品

製品情報▶ P13

細胞機能解析—マイクロプレートリーダーで測定—

細胞機能の理解は疾病の解明や予防、治療薬の開発や機能性物質の特定などにおいて重要であり、医療、化粧品、機能性食品など多岐にわたる分野で注目されています。また、近年の解析技術の進歩により、細胞機能解析のための手法に対する要望も変わっています。例えば、顕微鏡による目視判定での評価から、定量化・数値化したい、多くのサンプルを一度に解析したい、等といった要望が増えていきます。

今回は、小社でラインナップしている、マイクロプレートリーダーによる測定に対応した製品をご紹介します。



品名	検出	容量	希望納入価格	メーカーコード
細胞内代謝測定キット				
Lactate Assay Kit-WST	吸光 (450 nm)	50 tests	¥29,000	L256
Glucose Assay Kit-WST		200 tests	¥68,000	
NAD/NADH Assay Kit-WST		50 tests	¥18,000	G264
NADP/NADPH Assay Kit-WST		200 tests	¥38,000	
Glutamine Assay Kit-WST		100 tests	¥54,000	N509
Glutamate Assay Kit-WST		100 tests	¥54,000	N510
Glutamine Assay Kit-WST		100 tests	¥55,000	G268
Glutamate Assay Kit-WST		100 tests	¥50,000	G269
細胞増殖・毒性測定キット				
Cell Counting Kit-8	吸光 (450 nm)	100 回用	¥5,400	CK04
		500 回用	¥13,600	
		2500 回用	¥37,800	
		5000 回用	¥70,000	
		10000 回用	¥102,000	
Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST	吸光 (490 nm)	100 tests	¥9,800	CK12
		500 tests	¥26,200	
		2000 tests	¥39,200	
Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit	吸光 (450, 490 nm)	500 tests	¥29,800	CK17
Cell Counting Kit-F	蛍光 (Ex: 490 nm/ Em: 515 nm)	500 回用	¥14,400	CK06
細胞数補正キット				
Cell Count Normalization Kit	蛍光 (Ex: 350 nm/ Em: 461 nm)	200 tests	¥8,000	C544
		1000 tests	¥20,000	

品名	検出	容量	希望納入 価格	メーカー コード
ミトコンドリア膜電位検出キット				
JC-1 MitoMP Detection Kit	蛍光 (Green: Ex 485 nm/ Em 525-545 nm Red: Ex 535 nm/ Em 585-605 nm)	1 set	¥23,000	MT09
オートファジー検出キット				
DAPGreen - Autophagy Detection	蛍光 (Ex: 450 nm/ Em: 535 nm)	5 nmol	¥36,000	D676
細胞老化検出キット				
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-β Gal	蛍光 (Ex: 535 nm/ Em: 580 nm)	20 tests	¥11,000	SG05
		100 tests	¥32,000	
脂肪滴検出キット				
Lipid Droplet Assay Kit - Blue	蛍光 (Ex: 360, 380 nm/ Em: 430, 460 nm)	1 set	¥25,000	LD05
Lipid Droplet Assay Kit - Deep Red	蛍光 (Ex: 590 nm/ Em: 635, 670 nm Ex: 620 nm/ Em: 670 nm)	1 set	¥25,000	LD06
抗酸化測定キット				
SOD Assay Kit - WST	吸光 (450 nm)	100 tests	¥8,800	S311
		500 tests	¥22,900	
GSSG/GSH Quantification Kit	吸光 (405, 415 nm)	200 tests	¥54,800	G257
鉄 (Fe ²⁺) 検出キット				
FerroOrange	蛍光 (Ex: 543 nm/ Em: 580 nm)	1 tube	¥14,000	F374
		3 tubes	¥32,000	



ミトコンドリアを追跡する

動画で見るマイトファジー



	ミトコンドリア染色用色素	MitoBright LT Green
	マイトファジー検出キット	Mitophagy Detection Kit

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