

細胞機能解析

Analysis for Cellular Function

細胞老化

細胞周期

細胞内代謝

ミトコンドリア

オートファジー

エクソソーム

脂質

イオン検出

抗体標識

細胞増殖・細胞毒性

細胞機能解析 目次

細胞老化

SA-β-gal 検出 (イメージング・FCM)	Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal	… 5
SA-β-gal 検出 (プレートアッセイ)	Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal	… 6
γH2AX 検出	DNA Damage Detection Kit - γH2AX Green / Red / Deep Red	… 7
核小体検出	Nucleolus Bright Green / Red	… 8
細胞数補正	Cell Count Normalization Kit	… 9

細胞周期

細胞周期測定	Cell Cycle Assay Solution Blue / Deep Red	… 10
--------	---	------

細胞内代謝

グルコース測定	Glucose Assay Kit-WST	… 12
乳酸測定	Lactate Assay Kit-WST	… 12
NAD ⁺ /NADH 測定	NAD/NADH Assay Kit-WST	… 13
NADP ⁺ /NADPH 測定	NADP/NADPH Assay Kit-WST	… 13
グルタミン測定	Glutamine Assay Kit-WST	… 14
グルタミン酸測定	Glutamate Assay Kit-WST	… 14

ミトコンドリア

膜電位検出	JC-1 MitoMP Detection Kit	… 16
マイトファジー検出	Mitophagy Detection Kit	… 17
鉄イオン検出	Mito-FerroGreen	… 19
脂溶性過酸化物質検出	MitoPeDPP	… 20
一重項酸素検出	Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging	… 21
ミトコンドリア染色	MitoBright LT Green / Red / Deep Red	… 22

オートファジー

オートファゴソーム検出	DAPGreen / DAPRed - Autophagy Detection	… 23
オートリソソーム検出	DALGreen - Autophagy Detection	… 23

エクソソーム

エクソソーム膜 蛍光染色	ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit Green / Red / Deep Red	… 25
エクソソームタンパク質 蛍光染色	ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit Green / Red / Deep Red	… 25

脂質

脂肪滴染色	Lipi Blue / Green / Red / Deep Red	… 27
脂肪滴測定	Lipid Droplet Assay Kit Blue / Deep Red	… 29
過酸化脂質検出	Liperfluo	… 30

イオン検出

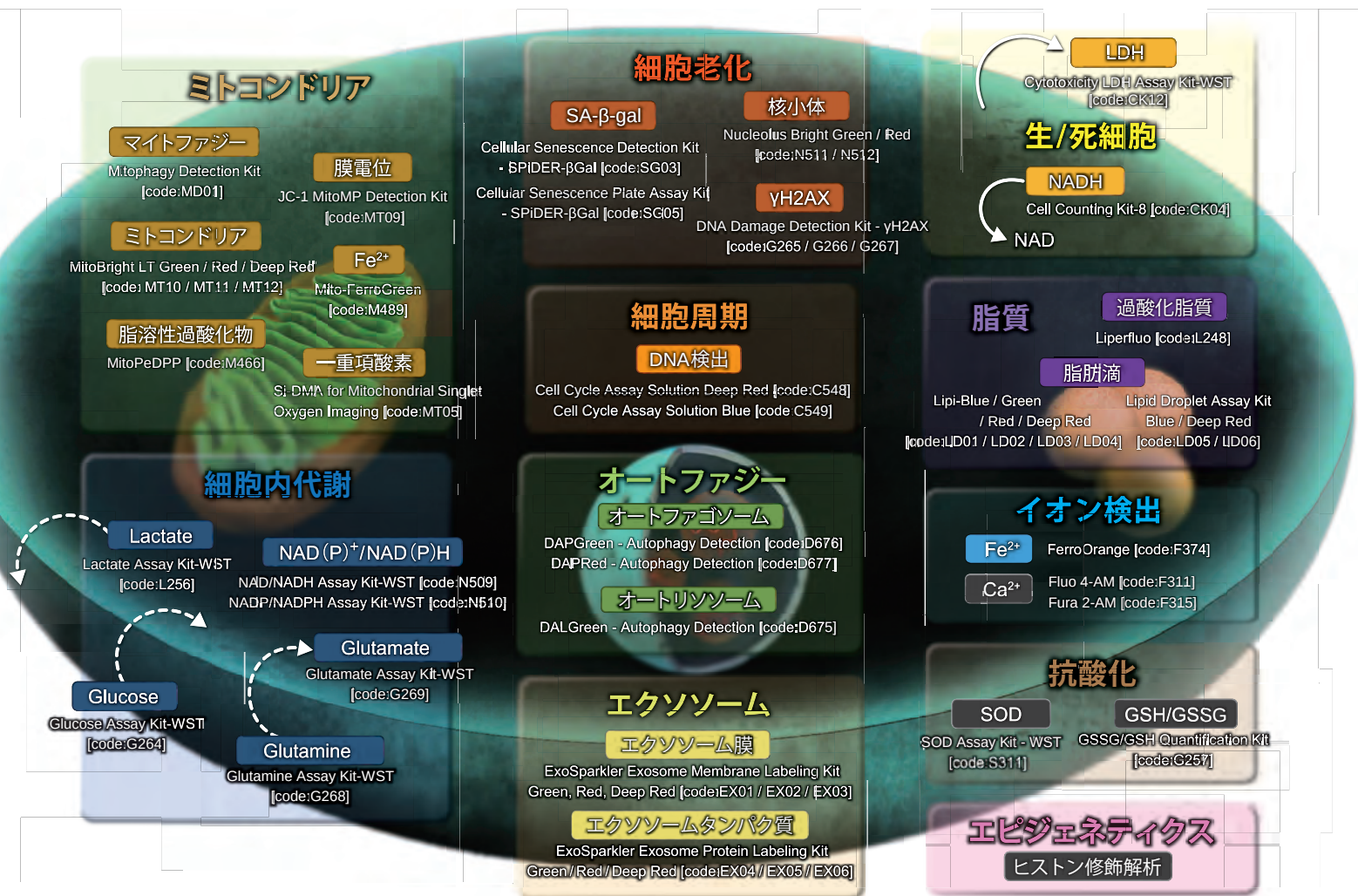
細胞内鉄イオン測定	FerroOrange	… 31
-----------	-------------	------

抗体標識

一次抗体標識	Labeling Kit series	… 32
--------	---------------------	------

生 / 死細胞

細胞増殖/ 毒性測定	Cell Counting Kit-8	… 33
細胞毒性測定	Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST	… 33
生細胞・死細胞測定	Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit	… 34



抗酸化

SOD様活性測定	SOD Assay Kit - WST	[製品コード：S311]
グルタチオン測定	GSSG/GSH Quantification Kit	[製品コード：G257]

生体硫黄

H ₂ S 検出	HSip-1 DA	[製品コード：SB22]
タンパク質チオール検出	PEG-PCMaI	[製品コード：SB20]
〃	Protein Redox State Monitoring Kit Plus	[製品コード：SB12]
サルフェン硫黄検出	SSP4	[製品コード：SB10]

エピジェネティクス

ヒストン修飾検出	Anti H3K9me3 antibody - Green	[製品コード：H419]
〃	Anti H3K4me3 antibody - Green	[製品コード：H420]
〃	Anti H3K27me3 antibody - Green	[製品コード：H421]
〃	Anti H3K27Ac antibody - Green	[製品コード：H422]
〃	Anti H3K36me3 antibody - Green	[製品コード：H423]

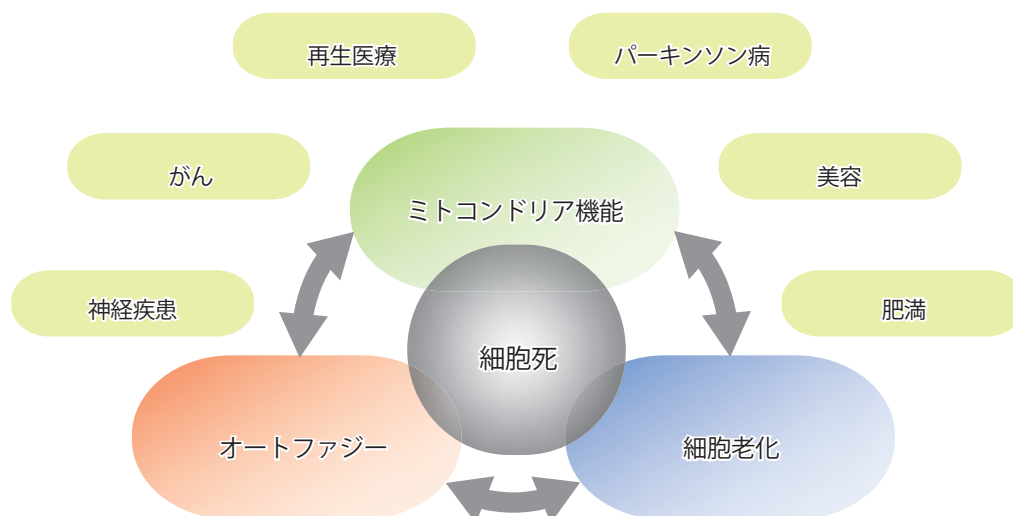
上記の製品情報は本紙に掲載していません。

製品の詳細は、右記のキーワードより小社HPをご覧ください。

製品コード 同仁 検索

細胞機能解析

細胞機能の理解は、疾病の解明や治療薬の開発において重要である。なかでもオートファジーや細胞老化、ミトコンドリア機能は密接に関連していることが分かってきており、医療分野や化粧品業界においても注目されている。また 2017 年度より文部科学省も老化研究へ予算配分を決定しており、今後の研究開発の発展が期待されている。



オートファジーによる細胞老化の抑制

オートファジーや、細胞老化、ミトコンドリア機能が密接に関連している例として、マウスの筋幹細胞を用いた例がある。筋幹細胞が細胞周期の静止期にとどまるのはオートファジーに依存しており、オートファジーの機能が低下すると、処理しきれなかった機能不全のミトコンドリアによって活性酸素 (ROS) の発生が増加し、その結果、細胞老化に陥る。若い細胞でもオートファジーを阻害すると細胞老化が誘導され、また逆に、老化した細胞でもオートファジーを誘導することで、ミトコンドリア機能が回復し、再生能力の回復が確認されている。



論文情報

L. García-Prat, M. Martínez-Vicente, E. Perdiguerro, L. Ortet, J. Rodríguez-Ubreva, E. Rebollo, V. Ruiz-Bonilla, S. Gutarra, E. Ballestar, A. L. Serrano, M. Sandri & P. Muñoz-Cánoves, "Autophagy maintains stemness by preventing senescence." *Nature*, **2016**, 529 (7584), 37.

表記について

製品 HP では、最新の論文情報や技術情報を随時情報を更新しています。
掲載している QR コードもしくはキーワードよりご覧ください。
また、各製品で利用できる実験装置情報を掲載しています。

最新情報はこちら



利用装置



老化細胞を 様々な指標で見る

老化細胞検出キット・試薬

老化マップ 同仁 検索

最新情報はこちら



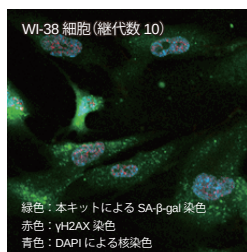
細胞の生存および死をコントロールするために備わったアポトーシスやネクローシス、オートファジー、細胞老化は、細胞内機能を理解するうえで非常に重要です。その中でも細胞老化は、近年ガン化因子として知られる SASP の発見や、Stem cell 分野での老化現象の発見が認められるなど、各分野で重要視されてきています。

小社では、細胞老化の評価方法および評価目的に応じて選択できるよう 4 種類のキットおよび試薬をご用意しました。

製品ラインナップ

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal 蛍光顕微鏡、FCM※による高感度解析 p.5

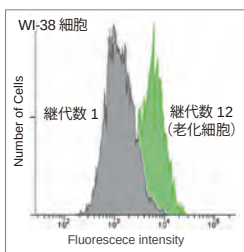
- ・ X-gal では困難だった定量解析が容易に
- ・ 生細胞、固定化細胞の SA-β-gal 活性を検出



WI-38 細胞 (継代数 10)

緑色：本キットによる SA-β-gal 染色
赤色：γH2AX 染色
青色：DAPI による核染色

蛍光イメージング (多重染色)



WI-38 細胞

継代数 1 継代数 12 (老化細胞)

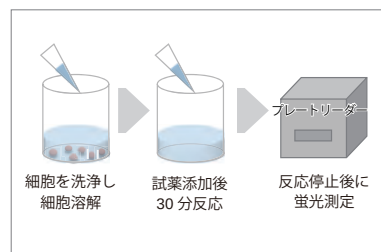
フローサイトメトリー定量解析

老化細胞のモデルとして継代培養を繰り返した WI-38 細胞を用い解析。

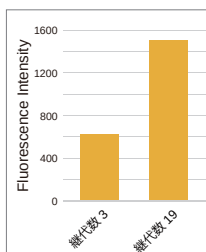
※ FCM：フローサイトメトリー

Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal プレートリーダーによる簡便な検出 p.6

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



測定操作

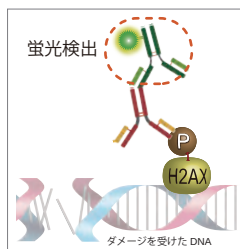


プレートリーダー解析

継代数の異なる WI-38 細胞を用い SA-β-gal 活性を数値化。

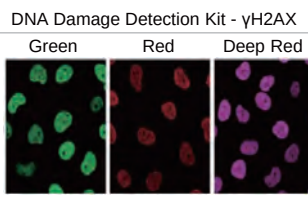
DNA Damage Detection Kit - γH2AX DNA ダメージの変化を老化細胞で解析 p.7

- ・ γH2AX を指標に DNA ダメージを評価
- ・ 蛍光波長の異なる 3 色をラインナップ



検出方法

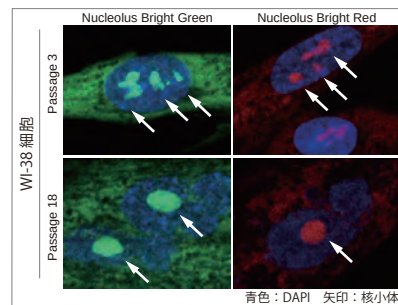
Doxorubicin 添加により、DNA ダメージを受けた細胞を解析。



Doxorubicin 処理した細胞の評価

Nucleolus Bright Green/ Nucleolus Bright Red 核小体の変化を老化細胞で解析 p.8

- ・ RNA 選択的な色素で核小体を可視化
- ・ 固定化細胞への添加で多重染色できる



青色：DAPI 矢印：核小体

継代数が少ない細胞に比べ、継代数の多い細胞では核小体が肥大化あるいは一つに凝集しているものを多く観察。

蛍光顕微鏡、FCMによる 高感度解析

老化細胞検出試薬

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

SG03 同仁

検索

利用装置



最新情報はこちら

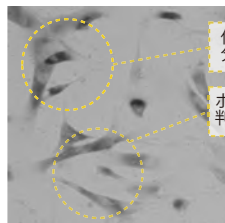


老化細胞において過剰発現が認められる SA-β-gal (senescence-associated β-galactosidase) は、老化マーカーとして広く用いられています。本キットに含まれる β-galactosidase 検出試薬 SPiDER-βGal は、細胞膜透過性が高く、優れた細胞内滞留性を有しており、生細胞・固定化細胞に対応。更に蛍光染色法なのでフローサイトメトリーによる定量解析や蛍光顕微鏡による多重染色を可能にしました。

老化細胞を定量できる 従来法の課題を解決

従来法 (X-gal 法) の課題は
細胞数を顕微鏡下で目視カウント

- ・人によってポジティブ細胞の判断が異なる
- ・実験毎のデータがバラつく

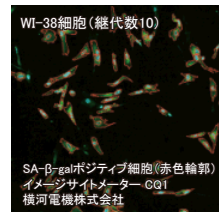
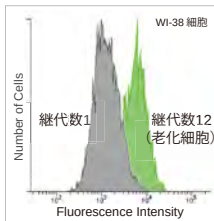


何個の細胞があるか
分がらつらい

ポジティブ・ネガティブの
判断が難しい

本キットでは
蛍光法で細胞一つ一つを鮮明に検出

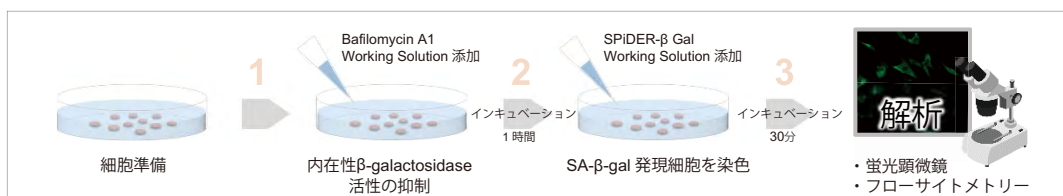
- ・フローサイトメトリーで定量できる
- ・イメージングサイトメーターによる定量/イメージングに対応



SA-β-galポジティブ細胞(赤色輪郭)
イメージサイトメーター CQ1
横河電機株式会社

試薬添加だけの簡単操作 染色時間は 30 分

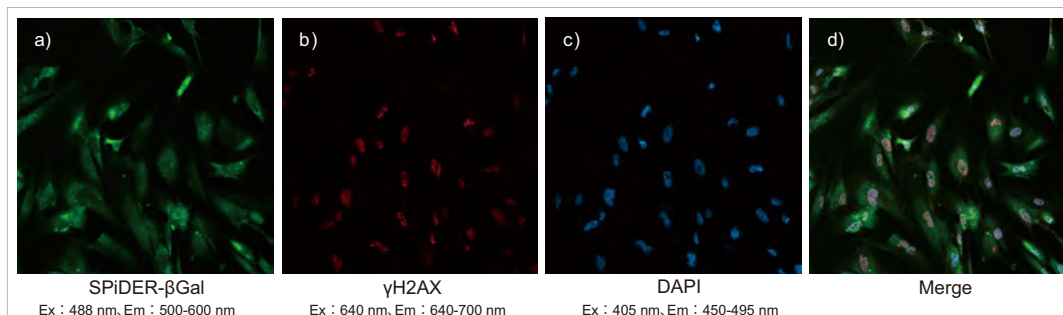
本キットでは生細胞にも固定化細胞にも適応でき、何れも染色操作は 30 分間で完了します。



※ 上図は生細胞を利用した操作例。固定化細胞の場合はバッファー交換により内在性β-galactosidase 活性を抑制します。

蛍光法だからできる多重染色 異なる老化マーカーとの共染色

老化細胞のモデルとして継代培養を繰り返した WI-38 細胞 (Passage 10) を用い、a) 本キットによる検出、異なる老化マーカーとして b) γH2AX の免疫染色、c) 全細胞の核染色 (DAPI) を行いました。実験の詳細は、小社製品 HP にてご案内しています。



品名

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

容量

10 assays

希望納入価格

¥39,000

和光コード

347-09181

製品コード

SG03

プレートアッセイで 細胞老化を簡便に検出

老化細胞検出試薬

Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal

SG05 同仁

検索

利用装置



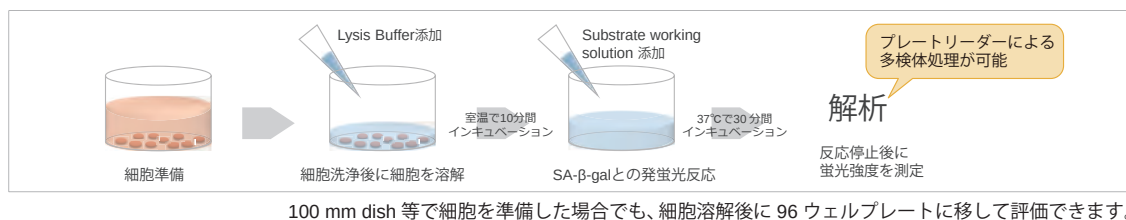
最新情報はこちら



本キットは β-galactosidase 検出試薬 SPiDER-βGal を採用し、プレートアッセイ法による簡便な SA-β-gal 活性の数値化を実現しました。また、SA-β-gal を指標としているためデータの信頼性も高く、多検体の評価にも利用することができます。

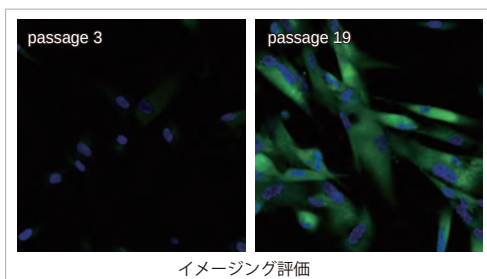
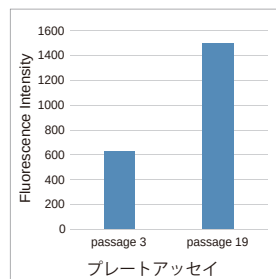
簡便に老化細胞を数値化 プレートに加えるだけ

キット同梱の Buffer で細胞を溶解し、試薬を添加するだけで、SA-β-gal 活性に応じた蛍光強度が得られます。



老化細胞の測定例 イメージング結果と相関

継代数の異なる WI-38 細胞を用い、本キットによるプレートアッセイ(左図)および Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal [製品コード: SG03] によるイメージング(右図)を行いました。



■ プレートアッセイ(左図)の検出条件
535 nm (Ex), 580 nm (Em)

■ イメージング(右図)の検出条件

緑色:SA-β-gal 染色:

488 nm (Ex), 500-600 nm (Em)

青色:DAPI [製品コード: D523] による核染色:

405 nm (Ex), 450-495 nm (Em)

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal	20 tests	¥11,000	345-09501	SG05
	100 tests	¥32,000	341-09503	

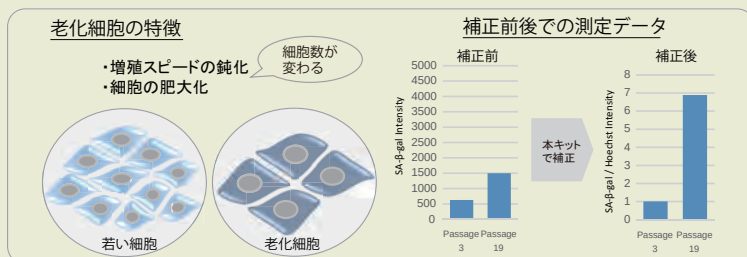
プレートアッセイ時の併用でデータ信頼性を向上

Normalization 同仁 検索

細胞数ノーマライゼーションキット

マイクロプレートを用いた細胞の解析では、得られる結果がウェル中の細胞数によって変化するため、得られた測定値の補正(ノーマライゼーション)が必要となります。本キットでは、細胞内の核を染色し得られる蛍光強度から、細胞数を簡便に評価することができます。

老化細胞評価時のデータ補正例



試薬をウェルに加えるだけ

本キットによるノーマライゼーション

ウェル中の細胞に試薬を加え、30分後にプレートリーダーで測定



品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Cell Count Normalization Kit	200 tests	¥8,000	342-09393	C544
	1000 tests	¥20,000	346-09391	



蛍光で見る DNA ダメージ

γH2AX 検出キット

DNA Damage Detection Kit - γH2AX Green / Red / Deep Red

G265 同仁

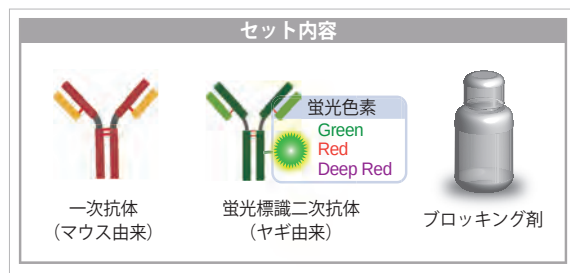
検索

本製品は、DNA ダメージの指標である γH2AX を二次抗体法で簡便に検出するキットです。初めての方も使い易いよう、検出に必要な試薬をセットにしておき、γH2AX を指標とした論文報告や実験例を小社 HP にてご紹介しています。

3 つの特徴

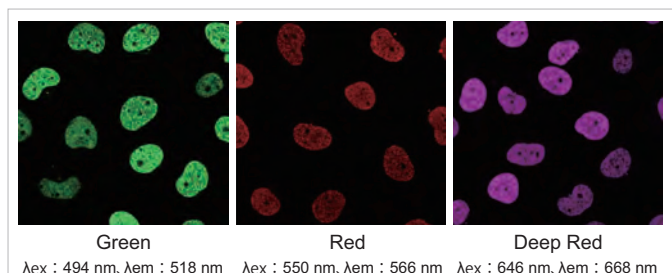
■ 検出に必要な試薬がセットに

オールインワンなのですぐに評価できます。



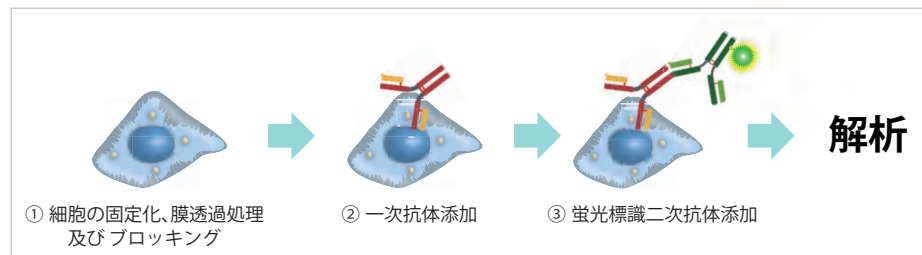
■ 色が選べる

多重染色に適した色を選択できます。



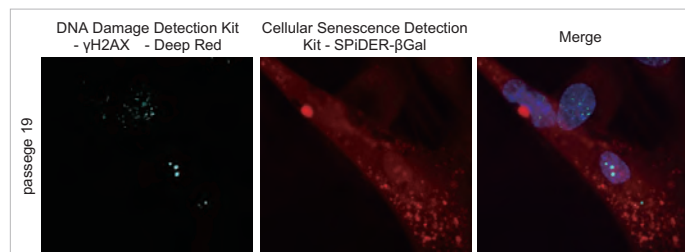
■ 3 ステップの簡便な操作

細胞の固定化と膜透過処理後、キットに梱包している試薬の添加と洗浄操作だけで染色できます。



SA-β-gal との共染色例

継代を 19 回行った WI-38 細胞を用い、本キットにより γH2AX を検出、また Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- βGal にて SA-β-gal (senescence-associated β-galactosidase) を検出しました。結果、継代を繰り返した WI-38 細胞において、γH2AX 由来の蛍光が増大し、SA-β-gal 活性が亢進する結果が得られました。継代数の少ない細胞との比較データは小社 HP に掲載しています。



■ 染色条件

継代数の異なる WI-38 細胞を固定化後、Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal にて染色。0.1 % Triton-X/PBS を用い膜透過処理後、本キットにて γH2AX を染色。

■ 検出条件

γH2AX (Deep Red) : 590-650 nm (Ex)、663-738 nm (Em)
SA-β-gal : 533-557 nm (Ex)、570-640 nm (Em)
DAPI : 340-380 nm (Ex)、435-485 nm (Em)

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Green	1 set	¥34,000	343-09421	G265
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Red	1 set	¥34,000	340-09431	G266
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Deep Red	1 set	¥34,000	347-09441	G267

核小体を 老化細胞マーカーに

核小体染色蛍光試薬

Nucleolus Bright Green / Red

N511 同仁 検索

利用装置

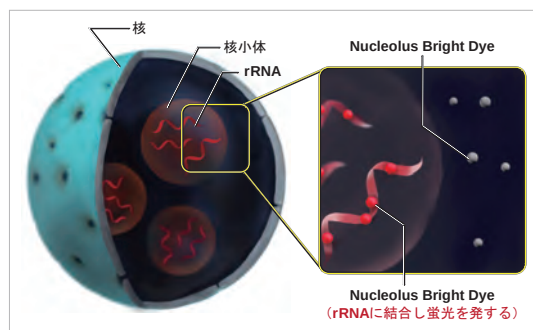


最新情報はこちら



Nucleolus Bright は RNA に結合し蛍光性となる低分子蛍光色素で、固定化した細胞に試薬を添加するだけで簡単にイメージングすることができます。

核小体とその検出原理



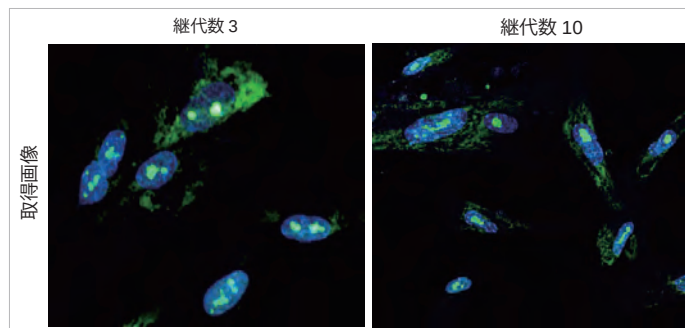
核小体は膜を持たない核内構造体であり、リボソーム生合成の起点となる場所です。核小体にはリボソームを構成するリボソーム RNA (rRNA) が多く存在し、rRNA の転写やプロセッシングなどが行われます。

また、核小体の変化は多くの細胞内イベントに関わっていると考えられており、以前よりがんの病理診断の指標として知られていましたが、近年では核小体ストレスを含め核小体と DNA 損傷、ウイルス感染、オートファジー及び細胞老化との関連性が報告されており、様々な研究分野で注目されています。

イメージングの際、核染色試薬 DAPI [製品コード：D523]と共染色することで、核小体をより分かりやすく確認できます。

イメージサイトメーターによる定量解析

核小体のイメージング像

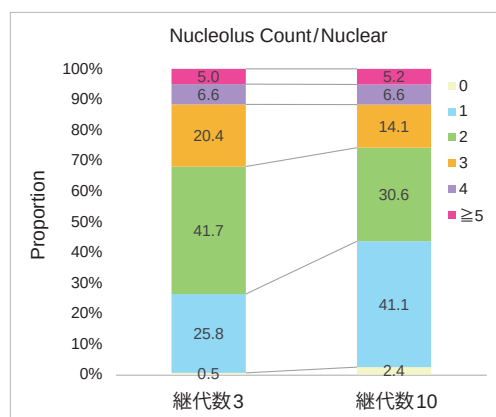


共焦点定量イメージサイトメーター（横河電機株式会社 CQ1）を用いた老化細胞の定量解析を行いました。継代数の異なる WI-38 細胞を固定化後、Nucleolus Bright Green により核小体を、DAPI にて核を染色し、共焦点定量イメージサイトメーターで定量解析を行いました。

横河電機 CQ1 撮影条件

使用プレート：96 well plate
対物レンズ：40 倍
撮影波長：405 nm (DAPI)：青
488 nm (Nucleolus Bright Green)：緑
視野：16 視野

核小体数の解析



継代数の多い細胞において、1 個の核に対して 1 個の核小体が存在する割合が増大し、2 個以上の核小体が存在する割合は減少する結果が得られました。この結果は、下記論文にある老化した WI-38 細胞における核小体数の減少（論文中の Table 3）^{*1}、および SETD8 ノックダウンにより老化誘導した細胞の核小体の変化（論文中の Figure 4D）^{*2} と同様の結果になりました。

^{*1} P. M. Bemiller, L. Lee, "Nucleolar changes in senescing WI-38 cells", *Mech. Ageing Dev.*, **1978**, 8, 417.

^{*2} H. Tanaka, S. Takebayashi, A. Sakamoto, T. Igata, Y. Nakatsu, N. Saitoh, S. Hino, M. Nakao, "The SETD8/PR-Set7 Methyltransferase Functions as a Barrier to Prevent Senescence-Associated Metabolic Remodeling.", *Cell Rep.*, **2017**, 18(9), 2148.

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Nucleolus Bright Green	60 nmol [*]	¥28,000	341-09341	N511
Nucleolus Bright Red	60 nmol [*]	¥28,000	348-09351	N512

※＜使用回数の目安＞ 35 mmdish: 30 枚分使用可能 (色素濃度 1 $\mu\text{mol/l}$ で使用した場合)

プレートアッセイの信頼性を高める

細胞数補正キット

Cell Count Normalization Kit

C544 同仁 検索

利用装置



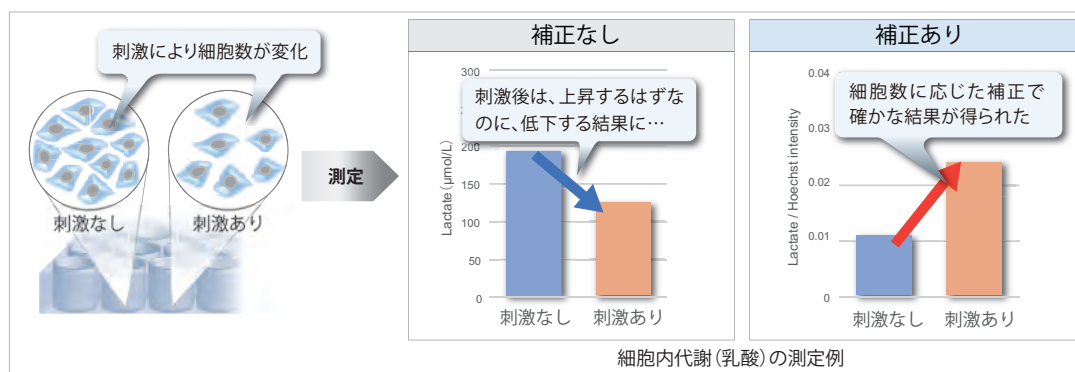
最新情報はこちら



本キットは、核染色試薬 (Hoechst 33342) とプレートアッセイ用に最適化したバッファーを同梱しており、試薬を細胞培養液に添加するだけで、簡単に細胞数を評価することができます。

細胞数補正の必要性

マイクロプレートを用いた細胞の解析では、得られる結果がウェル中の細胞数によって変化することがあります。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。



従来法との比較

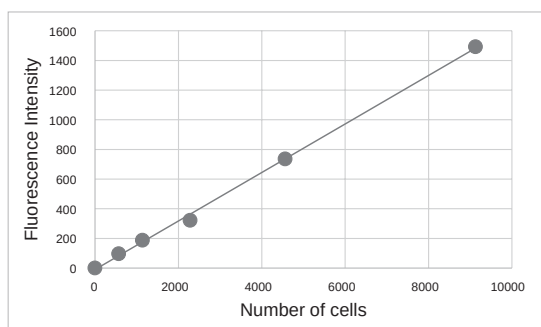
プレートアッセイ時の補正方法として、細胞数を直接数えるカウント法や相関する指標 (核、タンパク質量) での試験が知られています。これらの中で、核染色法は最も簡便な操作で多検体の解析が可能です。

	本キット (核染色法)	細胞数カウント法	タンパク質量法
操作の簡便性	○ 1 step	×	△ 3 steps
多検体処理への対応	○ 96-well に対応	×	○ 96-well に対応
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	△*1	○	△*2

*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。

細胞数との高い相関性



プレートアッセイ時のデータを補正する際は、細胞数に相当する評価法を用いる必要があります。HeLa細胞を段階希釈し、96穴マイクロプレートに播種、一晚培養後に本キットにて測定した結果、細胞数に応じて蛍光強度の変化がみられ、直線性の高い結果が得られました。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Cell Count Normalization Kit	200 tests	¥ 8,000	342-09393	C544
	1000 tests	¥ 20,000	346-09391	

短時間で見る 生細胞の細胞周期

細胞周期測定試薬

Cell Cycle Assay Solution Blue / Deep Red

Cell Cycle Assay
Solution Blue
(405 nm 励起)Cell Cycle Assay
Solution Deep Red
(633 nm 励起)

利用装置

FCM

最新情報はこちら

従来法
細胞固定化

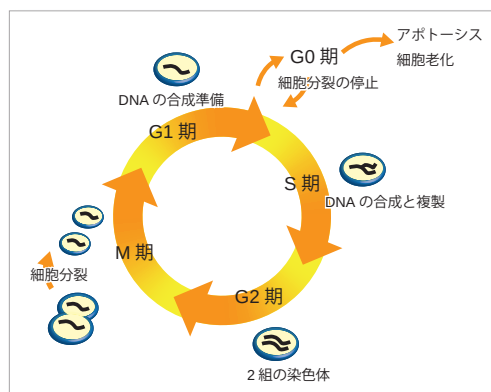
共染色に最適な2色をラインナップ

細胞周期の制御機構は、細胞増殖と密接に関連しており、ひとつの細胞が二つの娘細胞を生み出す細胞分裂は細胞周期を介して起こります。細胞周期の測定方法として、DNAを染色し、フローサイトメーターで測定することで細胞周期の各期の割合を解析することが可能です。

Cell Cycle Assay Solution シリーズでは、従来から用いられている Propidium Iodide (PI) を用いた手法で必要な細胞の固定化が不要で、多重染色を可能とするラインナップを取り揃えています。

製品の特徴

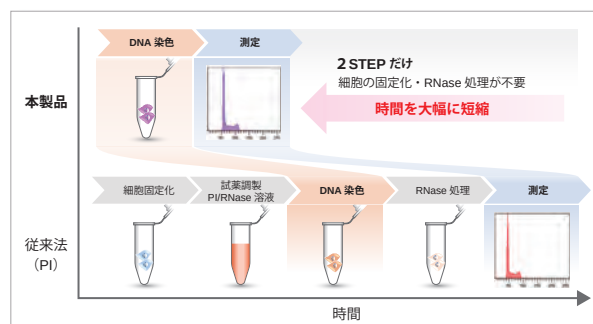
- 細胞の固定化、RNase 処理が不要、試薬を添加するだけ
- 405 nm(Blue)、633 nm(Deep Red) のレーザーで励起が可能



測定の手間を大幅に削減

フローサイトメーターでの細胞周期測定で一般的に使用される Propidium Iodide (PI) を用いた手法と比較して、本製品は細胞膜透過性があり、かつ DNA 選択性が高い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。

また、405 nm(Blue)、633 nm(Deep Red) のレーザーで測定可能なため、汎用性の高い 488 nm のレーザーを用いた実験と併用することが可能です。



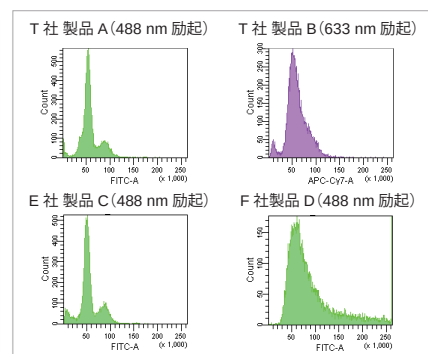
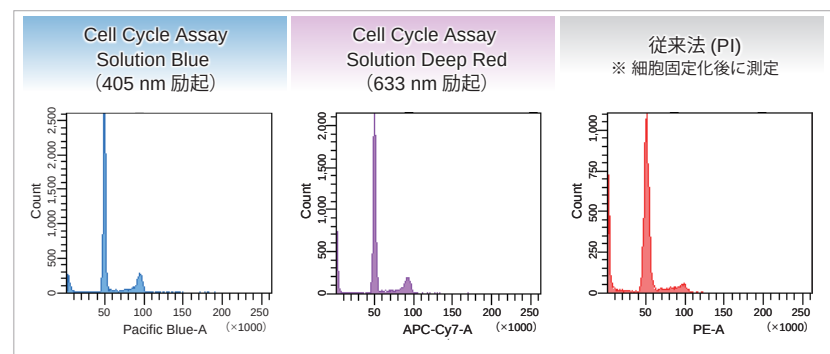
生細胞の細胞周期を明確に判別することが可能

CHO 細胞を用い、本製品にて生細胞を染色した後、フローサイトメーターで測定しました。また、汎用されている PI 法と既存の細胞周期測定試薬(他社製品 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製品と比べて生細胞においてもシャープなヒストグラムが得られました。

従来法(PI)との高い相関性

生細胞・固定化細胞で使用可能

シャープなヒストグラム



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Cell Cycle Assay Solution Blue	50 tests	¥ 13,000	341-09601	C549
Cell Cycle Assay Solution Deep Red	50 tests	¥ 13,000	348-09591	C548

これから始める 細胞内代謝測定

利用装置



最新情報はこちら



細胞内代謝測定

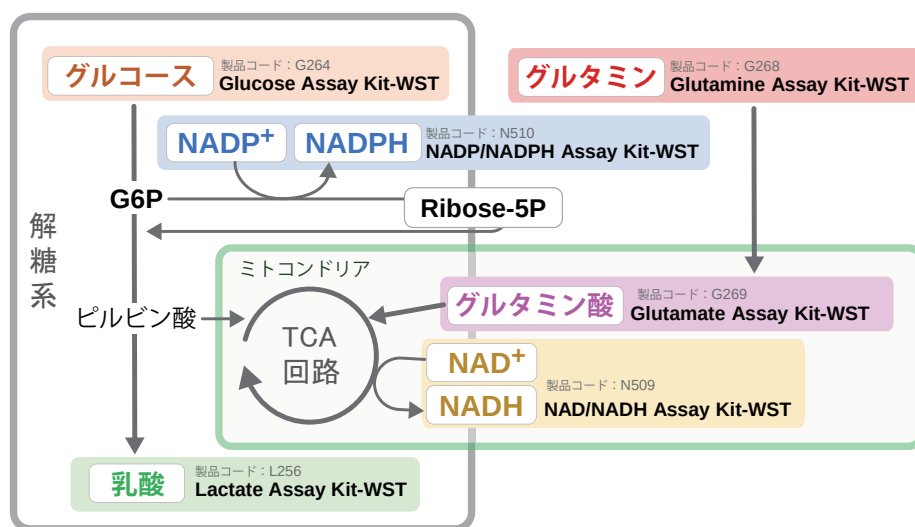
代謝マップ 同仁 検索

グルコース、乳酸、 NAD^+/NADH 、 $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ 、グルタミン、グルタミン酸 測定キット

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

ラインナップ

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



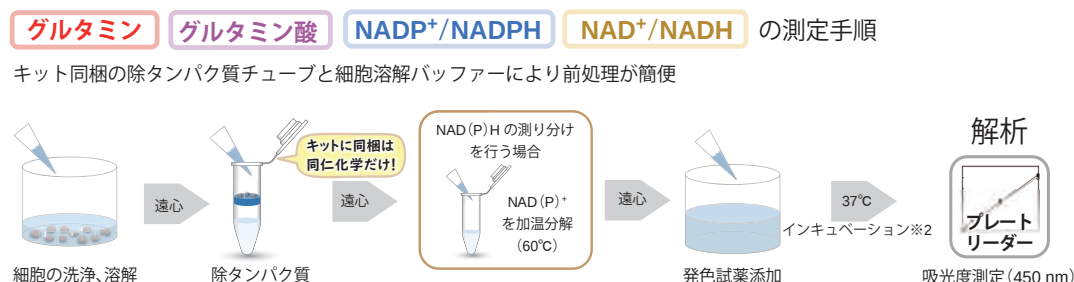
はじめてでも簡単な操作

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



※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、 $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ 60 分



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 点作成した場合）グルタミン、 $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ ：12 サンプル グルタミン酸：24 サンプル

グルコース、乳酸の測定

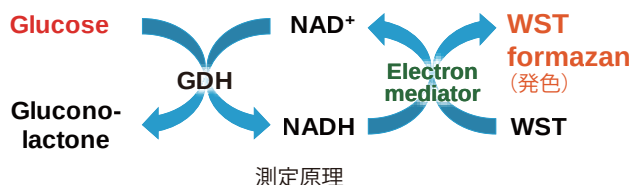
グルコース測定キット



Glucose Assay Kit-WST

G264 同仁 検索

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



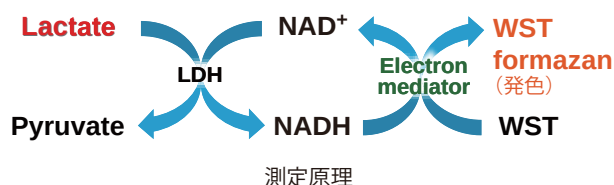
乳酸測定キット



Lactate Assay Kit-WST

L256 同仁 検索

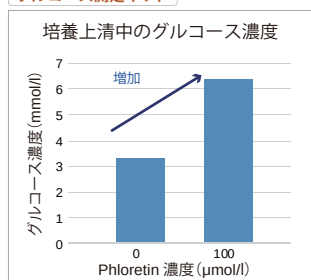
解糖系の代謝産物である乳酸を定量（下限値：0.02 mmol/l）することができます。乳酸の定量は、細胞内代謝経路の変化をモニタリングするための指標としてがん研究分野では広く使われていますが、最近では幹細胞の分化や糖尿病研究、ミトコンドリアの機能解析においても乳酸を指標とした評価の報告が増えています。



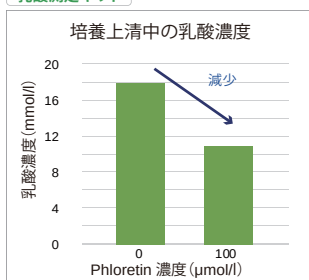
培養上清を2つの指標で評価

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

グルコース測定キット



乳酸測定キット

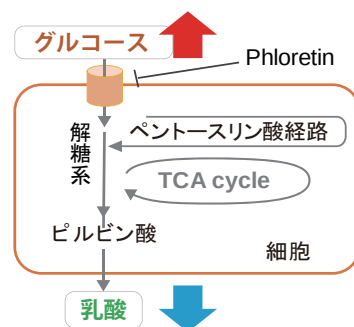


<実験条件>

細胞：Jurkat 細胞 (5×10^5 cells)
薬剤：Phloretin (終濃度：100 μmol/l)
暴露時間：一晚
測定サンプル：培養上清

<結果>

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



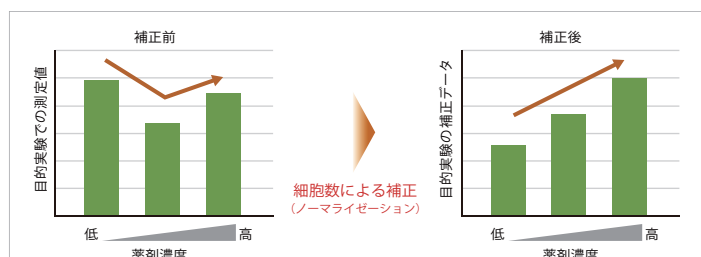
品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Glucose Assay Kit-WST	50 tests	¥ 18,000	342-09413	G264
	200 tests	¥ 38,000	346-09411	
Lactate Assay Kit-WST	50 tests	¥ 29,000	343-09281	L256
	200 tests	¥ 68,000	349-09283	

代謝キットとの併用でデータの信頼性を向上

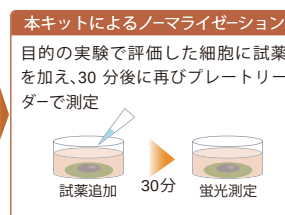
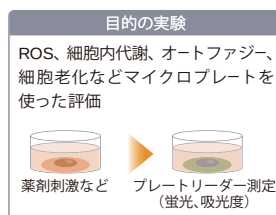
Normalization 同仁 検索

細胞数ノーマライゼーションキット

マイクロプレートを用いた細胞の解析では、得られる結果がウェル中の細胞数によって変化する場合があります。その際には、細胞数のカウントやトータルタンパク質量の確認により、得られた測定値の補正（ノーマライゼーション）が必要となります。本キットでは、試薬を細胞培養液に添加するだけで、細胞内の核を染色し得られる蛍光強度から、細胞数を簡便に評価することができます。



試薬をウェルに加えるだけ



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Cell Count Normalization Kit	200 tests	¥ 8,000	342-09393	C544
	1000 tests	¥ 20,000	346-09391	

NAD⁺/NADH、NADP⁺/NADPH の測定

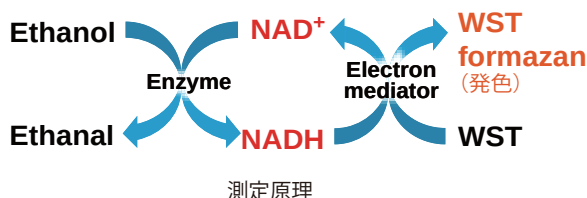
NAD⁺/NADH 測定キット



NAD/NADH Assay Kit-WST

N509 同仁 検索

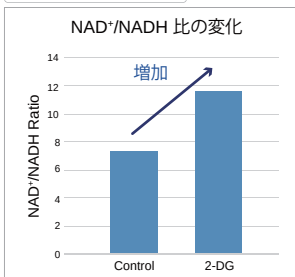
NAD⁺ は、解糖系や電子伝達、TCA 回路など細胞内の主要な代謝経路における重要な補酵素です。細胞内において酸化型 NAD⁺ と還元型 NADH の量を適切な状態で維持することが細胞機能には必須となっています。また最近の研究では、NAD⁺ 量の低下と老化との関連についても報告されています。



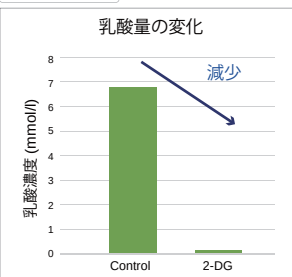
NAD⁺/NADH と乳酸の測定例

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

NAD/NADH 測定キット

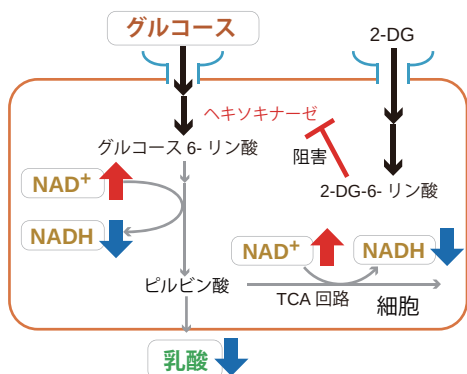


乳酸測定キット



<実験条件>

細胞：HeLa 細胞 (1 x 10⁶ cells) 暴露時間：24 時間
 薬剤：2-DG (終濃度：6 mmol/l) 測定サンプル：培養上清 (乳酸測定)、細胞 (NAD⁺/NADH 測定)



<結果>

2-DG 添加により細胞内の解糖系が阻害されたことで乳酸量は減少し、NAD⁺/NADH 比は増加する結果が得られました。

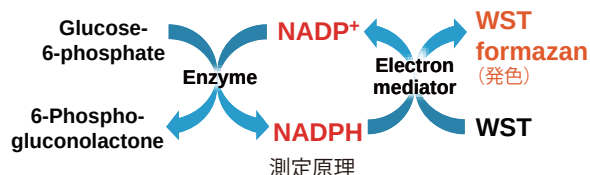
NADP⁺/NADPH 測定キット



NADP/NADPH Assay Kit-WST

N510 同仁 検索

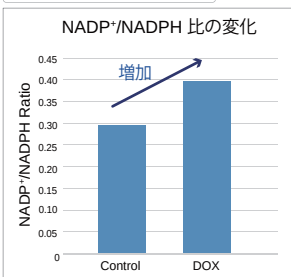
NADP⁺ は主に、細胞内代謝経路の 1 つであるペントース・リン酸経路での反応に関与する補酵素です。細胞内において、酸化型 NADP⁺ と還元型 NADPH として存在し、脂肪酸やコレステロールの生合成や還元型グルタチオンの生成に関与しています。また最近の研究で、糖質制限による寿命延長に NADP⁺/NADPH が関連しているということが報告されています。



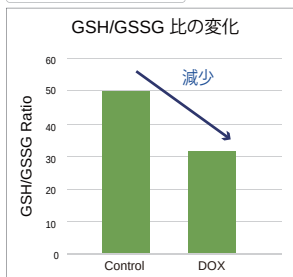
NADP⁺/NADPH とグルタチオンの測定例

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

NADP/NADPH 測定キット

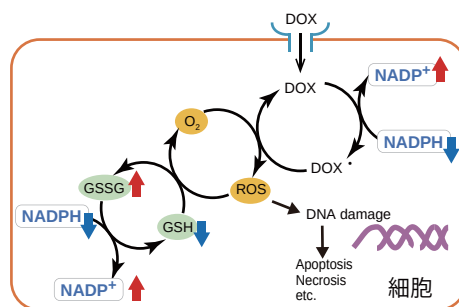


グルタチオン測定キット



<実験条件>

細胞：Jurkat 細胞 (3 x 10⁶ cells) 暴露時間：24 時間
 薬剤：DOX (終濃度：500 nmol/l) 測定サンプル：細胞



<結果>

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

<参考文献は弊社 HP に掲載しています>

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

グルタミン、グルタミン酸の測定

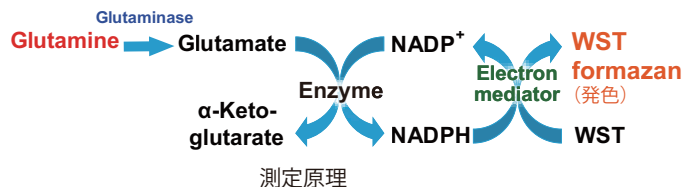
グルタミン測定キット



Glutamine Assay Kit-WST

G268 同仁 検索

グルタミンは、TCA サイクルの中間体である α -ケトグルタル酸の供給源です。特にがん細胞では、 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」が亢進しており、グルタミノリシスは活性酸素種の消去や、酸化型グルタチオンの還元に寄与していることが報告されています。細胞培養液中あるいは細胞内のグルタミンを5 $\mu\text{mol/l}$ から測定することができます。



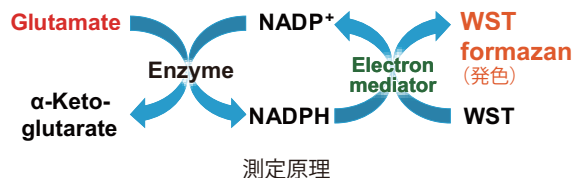
グルタミン酸測定キット



Glutamate Assay Kit-WST

G269 同仁 検索

グルタミン酸は、タンパク質やグルタチオンの生合成への利用だけでなく、神経伝達物質としても重要な働きをしており、過剰なグルタミン酸は、アルツハイマー病などの神経変性疾患の要因と考えられています。細胞培養液中あるいは細胞内のグルタミン酸を5 $\mu\text{mol/l}$ から測定することができます。

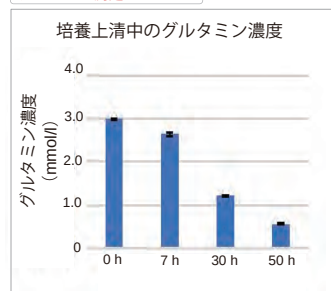


グルタミン及びグルタミン酸の測定例

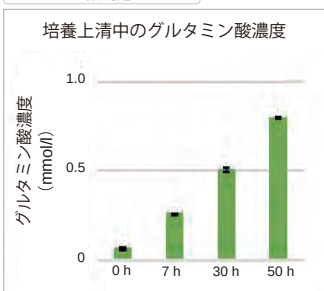
A549 細胞を6穴プレートに播種し、培養時間に伴う細胞培養上清中のグルタミン濃度を Glutamine Assay Kit-WST を用いて測定し、グルタミン酸濃度の変化を Glutamate Assay Kit-WST を用いて測定しました。

その結果、培地中のグルタミン濃度は時間と共に減少し、グルタミン酸濃度は時間と共に増加する結果が得られました。

グルタミン測定キット



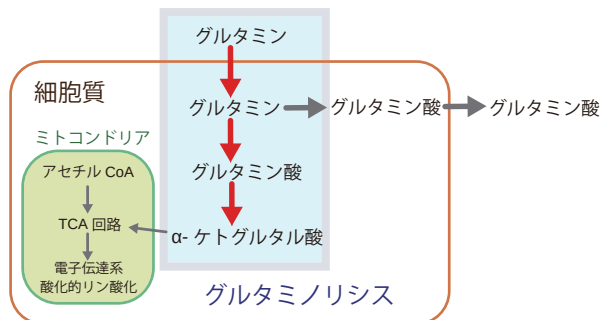
グルタミン酸測定キット



<実験条件>

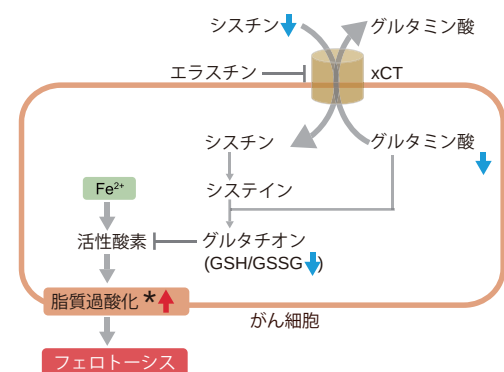
細胞：A549 細胞 (5×10^5 cells)

培養時間：50 時間

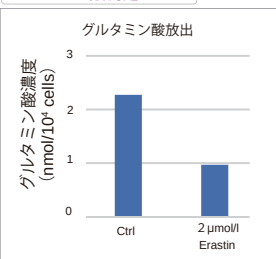


グルタミン酸の測定例

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、鉄依存性の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ます。エラスチン処理した A549 細胞において、グルタミン酸放出量およ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ました。



グルタミン酸測定キット

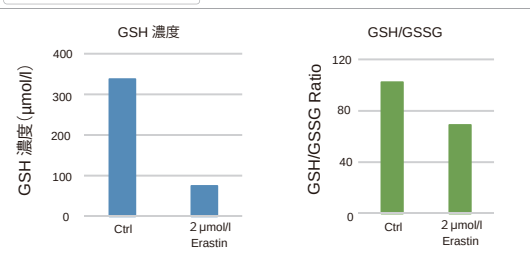


<実験条件>

細胞：A549 細胞 (5×10^6 cells)

薬剤：Erastin (終濃度：2 $\mu\text{mol/l}$)

グルタチオン測定キット



暴露時間：24 時間

測定サンプル：培養上清 (グルタミン酸測定)

細胞 (GSH/GSSG 測定)

* フェロトーシス研究において、脂質過酸化を蛍光イメージングで検出する試薬「Liperfluo」(p30) を使用した論文報告が増えています。詳細は HP よりご覧いただけます。

Liperfluo 同仁 検索

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Glutamine Assay Kit-WST	100 tests	¥55,000	348-09611	G268
Glutamate Assay Kit-WST	100 tests	¥50,000	345-09621	G269

ミトコンドリア解析用試薬

最新情報はこちら



ミトコンドリア研究 同仁 検索

鉄 (II) の検出 p.19

Mito-FerroGreen

ミトコンドリア内の 2 価鉄を選択的に検出できる。

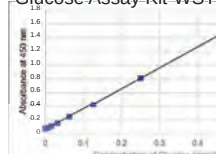
マイトファジーの検出 p.17

Mitophagy Detection Kit

低分子蛍光プローブにより生細胞中のマイトファジーを簡便に検出できる。

グルコース測定キット p.12

Glucose Assay Kit-WST



培地中のグルコースを定量し、細胞のグルコース消費量を確認できる。

一重項酸素の検出 p.21

Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging

UV 照射等で発生した一重項酸素をリアルタイムにイメージングできる。

脂溶性過酸化物の検出 p.20

MitoPeDPP

ROS により酸化障害を受けたミトコンドリア中の脂溶性過酸化物を検出できる。

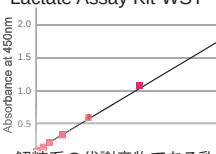
グルコース

解糖系

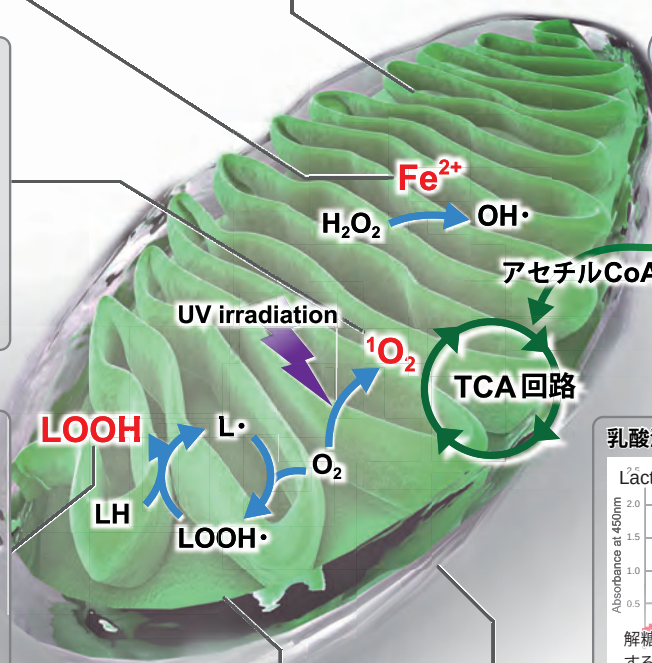
乳酸

乳酸測定キット p.12

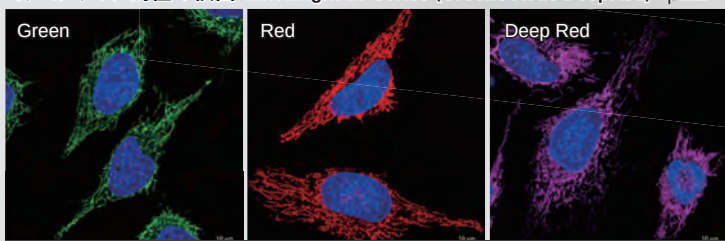
Lactate Assay Kit-WST



解糖系の代謝産物である乳酸を定量することができる。(0.1 Lactate (mmol/L))



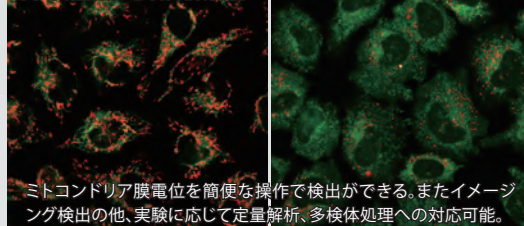
ミトコンドリア局在の検出 MitoBright LT Series (Green / Red / DeepRed) p.22



細胞内のミトコンドリアを特異的に染色できる。実験に応じた蛍光波長の選択が可能。

ミトコンドリア膜電位の検出 p.16

JC-1 MitoMP Detection Kit



ミトコンドリア膜電位を簡便な操作で検出ができる。またイメージング検出の他、実験に応じて定量解析、多検体処理への対応可能。



ミトコンドリア膜電位を 蛍光で見る

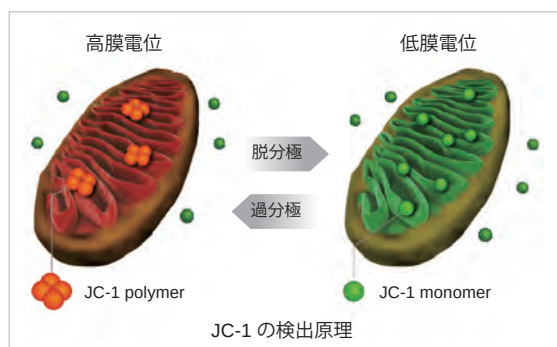
ミトコンドリア膜電位検出キット

JC-1 MitoMP Detection Kit

MT09 同仁 検索

本キットは、従来よりミトコンドリア膜電位検出に使用されている JC-1 色素と解析用のバッファーが含まれています。初めての方も使い易いよう、難溶性色素の溶解プロトコルをはじめ、様々なアプリケーションをご用意しています。

ミトコンドリア膜電位と検出原理



ミトコンドリアは、ATP 等のエネルギー産生場であり、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理解することが重要であり、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。ミトコンドリアが正常で膜電位差が保たれた状態では、JC-1 が凝集し赤色の蛍光を発し、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します。この赤色と緑色の蛍光強度の変化をミトコンドリアの状態として評価することができます。

初めてでも使いやすい

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。



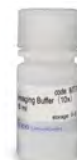
様々な装置に対応

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。



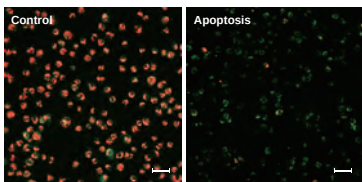
様々な装置での評価例

Jurkat 細胞にアポトーシス誘導剤である Staurosporine を添加し、本キットにて評価しました。

操作方法については、小社 HP に掲載している取扱説明書よりご覧いただけます。

蛍光顕微鏡

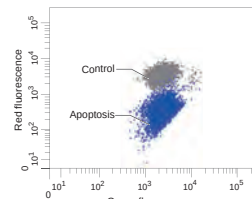
アポトーシス誘導により変化した膜電位を色の変化で明瞭にイメージング



<検出条件>
Green : Ex 488 nm / Em 500-550 nm
Red : Ex 561 nm / Em 560-610 nm
スケールバー : 80 μm

フローサイトメーター

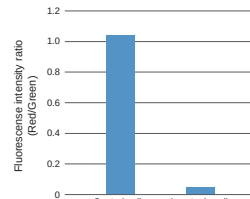
個々の細胞の膜電位変化を定量解析 (汎用のフィルターに対応)



<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

ウェル中のすべての細胞を対象に膜電位の変化を確認 (多検体処理に対応)



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

品名

JC-1 MitoMP Detection Kit

容量

1 set*

希望納入価格

¥ 23,000

和光コード

349-09401

製品コード

MT09



マイトファジーを簡便に見る

マイトファジー検出キット

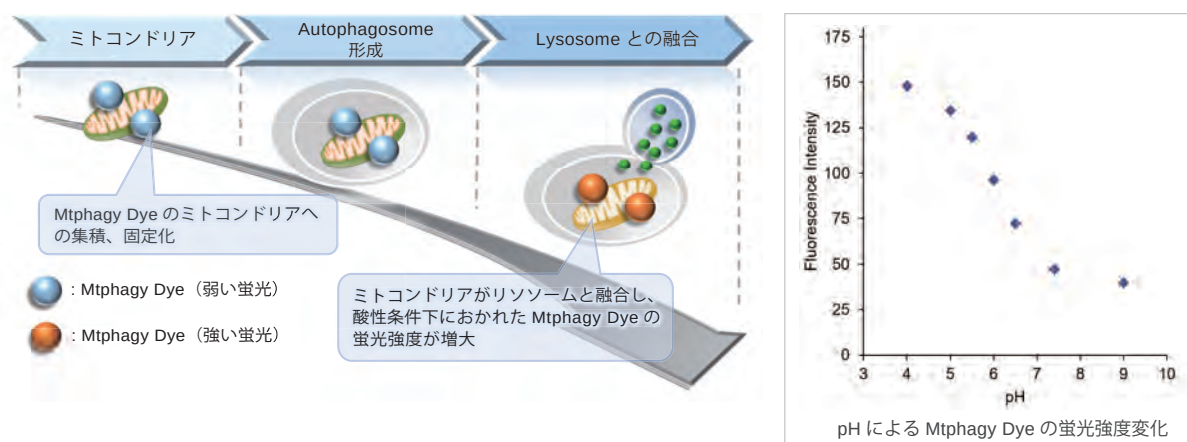
Mitophagy Detection Kit

MD01 同仁 検索

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

マイトファジーにより蛍光が増大

培養細胞に試薬 (Mtphagy Dye) を添加すると、ミトコンドリアに Mtphagy Dye が集積しますが、この状態では蛍光強度は弱い状態です。その後、マイトファジーが誘導されミトコンドリアがオートファゴソームに内包され、リソソームと融合すると酸性条件下となり Mtphagy Dye の蛍光が増大します。さらに、本キットに付属するリソソーム染色試薬 (Lyso Dye) と共染色することができます。



Mtphagy Dye は、pH4-5 付近で強い蛍光を示します。

■ 動画で見るマイトファジーのリアルタイム観察が公開されました。



HeLa 細胞を CCCP 処理し、マイトファジー検出試薬 (MtphagyDye) 及びミトコンドリア染色試薬 (MitoBright LT Green) にて共染色しタイムラプス撮影 (6 時間) した動画を HP で公開しています。

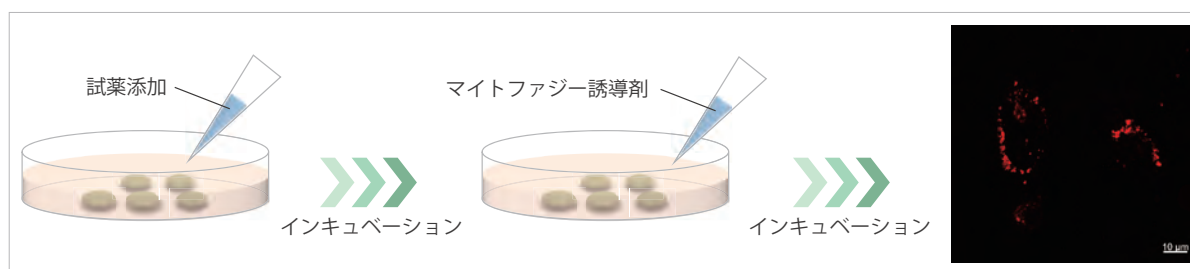
■ Mitophagy Detection Kit の原理・実績を説明した論文が公開されました。

H.Iwashita, S.Torii, N.Nagahora, M.Ishiyama, K.Shioji, K.Sasamoto, S.Shimizu, and K.Okuma, "Live Cell Imaging of Mitochondrial Autophagy with a Novel Fluorescent Small Molecule", ACS Chem. Biol., **2017**, 12, 2546.

※ その他の実績論文は、小社製品 HP にて紹介しています。

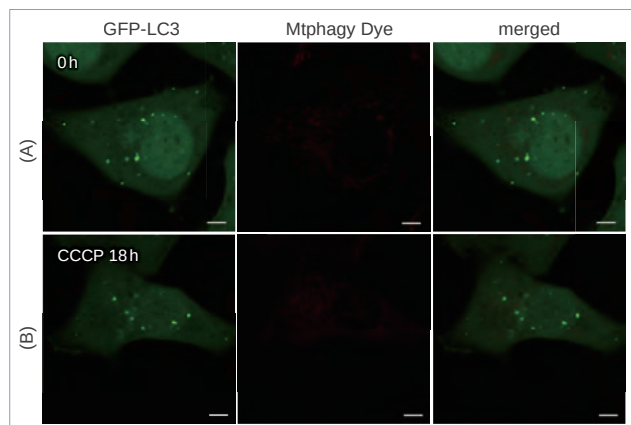
試薬添加のみの簡単操作

準備した細胞に試薬を添加するだけの簡単な操作で蛍光イメージングを実現します。

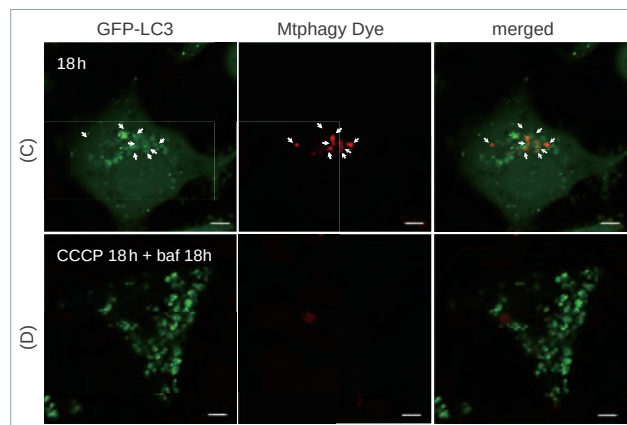


オートファジーマーカーとの比較

パーキン未発現 HeLa 細胞



パーキン発現 HeLa 細胞

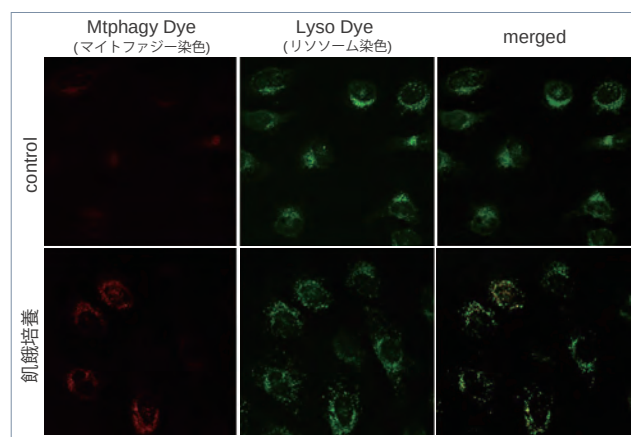


パーキン未発現および発現 HeLa 細胞に CCCP (carbonyl cyanide *m*-chlorophenyl hydrazone) を添加しミトファジーを誘導しました。CCCP 添加直後のパーキン未発現細胞 (A)、発現細胞 (データ非表示) および CCCP 添加 18 時間後のパーキン未発現細胞 (B) では、MtpHagy Dye の蛍光はみられませんでした。

一方、CCCP 添加 18 時間後のパーキン発現細胞 (C) では MtpHagy Dye の蛍光が増大し、オートファジーマーカー (GFP-LC3) の Puncta (斑点) と共局在することを確認できました。またオートファジー阻害剤であるバフィロマイシン (baf) を添加した細胞 (D) では、リソソーム内の pH が上昇するため、酸性環境で蛍光を発する MtpHagy Dye の蛍光は消失することも確認されました。

飢餓培養細胞での検出例

HeLa 細胞へ MtpHagy Dye を添加後、飢餓培養条件下にて 6 時間インキュベート。その後 Lyso Dye 添加によりリソソームの共染色を行いました。結果、飢餓培養した HeLa 細胞において、MtpHagy Dye の蛍光の増大がみられ、その局在はリソソームの局在とも合致しました。



検出条件

誘導条件：DMEM 培地 (アミノ酸不含、Pepstatin A 及び E-64d 含有)

<フィルター>

MtpHagy Dye : 561 nm (Ex)、650 LP nm (Em)
Lyso Dye : 488 nm (Ex)、502-554 nm (Em)

実験のお役立ち情報

本試薬を使用した論文実績、実験のコツ、測定原理を製品 HP でご案内しています。ぜひご覧ください。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Mitophagy Detection Kit	1 set ※	¥36,000	344-91901	MD01
MtpHagy Dye	5 µg × 3	¥78,000	349-92051	MT02

※ <使用回数の目安> 30 枚 (µ-Slide 8 well) / kit

ミトコンドリア内の鉄だけを光らせる

ミトコンドリア内鉄検出試薬

Mito-FerroGreen

M489 同仁 検索

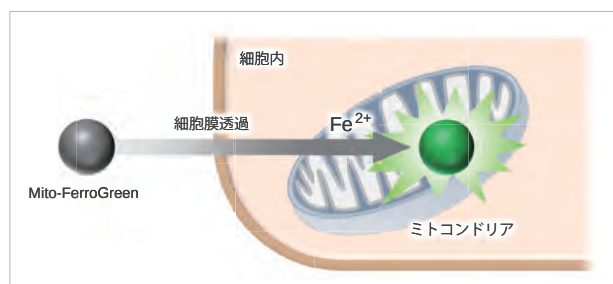
利用装置



最新情報はこちら



細胞膜透過性と Fe^{2+} 選択性



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、ミトコンドリア内鉄(II)イオンのライブセルイメージングに利用することが可能です。

※ 本製品は、岐阜薬科大学薬化学研究室 永澤秀子先生、平山祐先生のご指導の下、製品化しました。

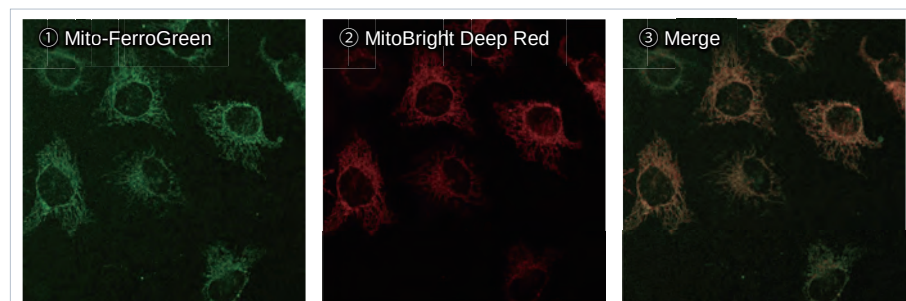


Fe^{2+} への高い選択性と高いシグナルが得られます。

50 mmol/l HEPES Buffer (pH7.4) 1 ml 中に 1 mmol/l Mito-FerroGreen 2 μl 、10 mmol/l 各種金属 2 μl 及び 1 mg/ml エステラーゼ 20 μl を加え室温にて 1 時間反応後の蛍光強度を測定。

確かなミトコンドリア集積性

Mito-FerroGreen の細胞内局在を確認するため、ミトコンドリア染色試薬 (MitoBright Deep Red[®]) と共染色を行ったところ、両試薬の蛍光は重複しており、Mito-FerroGreen はミトコンドリア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 :
488 nm (Ex)、500-565 nm (Em)
MitoBright Deep Red[®] :
640 nm (Ex)、656-700 nm (Em)

HeLa 細胞に 5 $\mu\text{mol/l}$ Mito-FerroGreen およびミトコンドリア染色試薬 200 nmol/l MitoBright Deep Red[®] を添加し炭酸ガスインキュベータ内で 30 分間インキュベート。更に 100 $\mu\text{mol/l}$ 硫酸アンモニウム鉄(II)を添加し、炭酸ガスインキュベータ内で 1 時間インキュベートし、蛍光イメージングにより観察。

※ 現在、MitoBright Deep Red は販売中止し、MitoBright LT Deep Red (製品コード: MT12) を後継品として販売しています。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Mito-FerroGreen	50 μg × 2 [*]	¥25,000	344-09211	M489

※ <使用回数の目安> 50 μg あたり、 μ -Slide 8 well 6 枚

ミトコンドリアの 脂溶性過酸化物を見る

脂溶性過酸化物検出試薬

MitoPeDPP

M466 同仁 検索

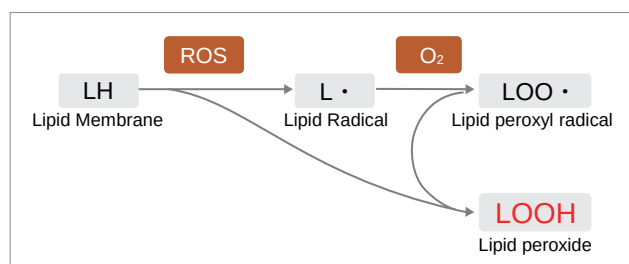
利用装置



最新情報はこちら



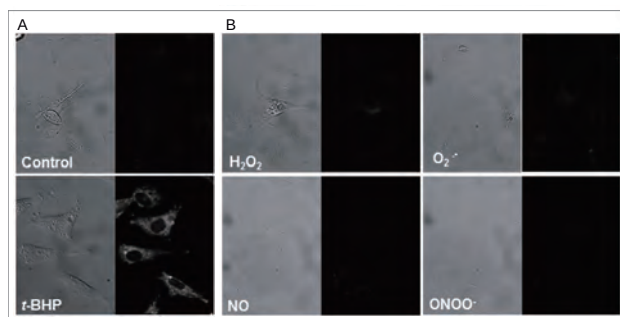
MitoPeDPP は、細胞膜を透過してミトコンドリアに集積し、膜中の脂溶性過酸化物によって特異的に酸化され蛍光が増大します。エネルギー産生のため酸素を多く消費するミトコンドリアにおいて、活性酸素種 (ROS) を評価することは非常に重要ですが、MitoPeDPP では実際に ROS などの酸化ストレス条件下で酸化された脂溶性ミトコンドリア膜などの過酸化物をイメージングにより評価できます。※ 本製品は福岡大学理学部 塩路先生らにより開発された製品です。



生体内で発生した活性酸素種 (ROS) は、脂質 (LH) と反応し脂質ラジカル ($L\cdot$) を生じます。更に酸素と反応し生成した脂質ペルオキシラジカル ($LOO\cdot$) は、別の脂質と反応することで過酸化脂質 (LOOH) を生成します。

反応選択性

細胞内でミトコンドリアに集積した MitoPeDPP は脂溶性過酸化物により酸化を受けて蛍光を発しました (A)。一方、細胞内では他の ROS、RNS との反応性は低いことが確認されました (B)。



A: HepG2 細胞中で MitoPeDPP を 15 分インキュベート後、100 $\mu\text{mol/l}$ t-BHP を添加。更に 15 分のインキュベート後、顕微鏡画像を取得。

B: HepG2 細胞中で MitoPeDPP を 15 分インキュベート後、各種 ROS、RNS 発生剤を添加。

H_2O_2 、NO、 ONOO^- は各発生剤の濃度を 100 $\mu\text{mol/l}$ 使用。 $\text{O}_2^{\cdot-}$ は PMA により発生させ 10 $\mu\text{mol/l}$ の濃度で使用。

※ 写真は位相差画像 (左) と蛍光画像 (右) を示す。

※ フィルター (wavelength/bandpass): 470/40 (Ex)、525/50 (Em)

Rotenone 刺激による検出例

HeLa 細胞に MitoPeDPP を添加した後、Rotenone 溶液を加え、蛍光顕微鏡を用いて観察しました。Rotenone 添加により細胞内に生じた脂溶性過酸化物が検出されました。

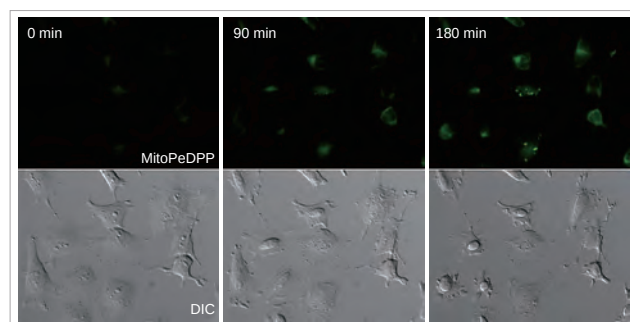


写真: Rotenone 添加

左) 直後、中) 90 分後、右) 180 分後

上) 蛍光画像、下) 位相差画像

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
MitoPeDPP	5 μg $\times$ 3 [※]	¥19,200	346-91721	M466

※ <使用回数の目安> 5 μg あたり、96 well plate 1-5 枚、35 mm dish 5-25 枚

ミトコンドリアの 一重項酸素を見る

ミトコンドリア局在型一重項酸素検出蛍光プローブ

Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging

MT05 同仁 検索

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

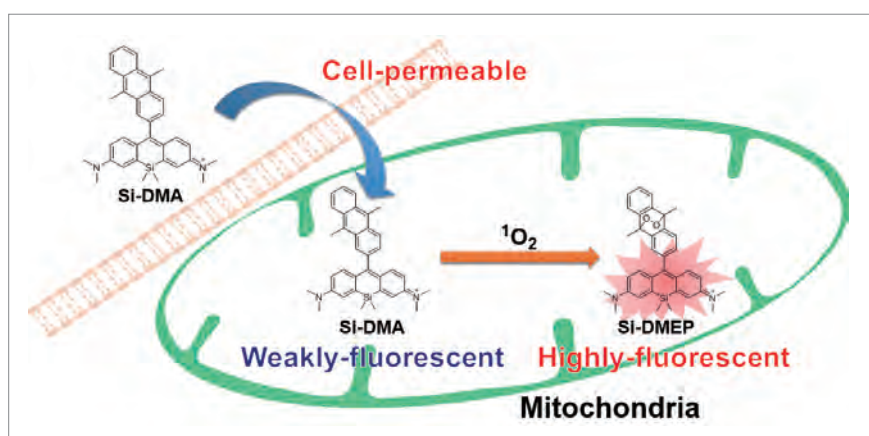
利用装置



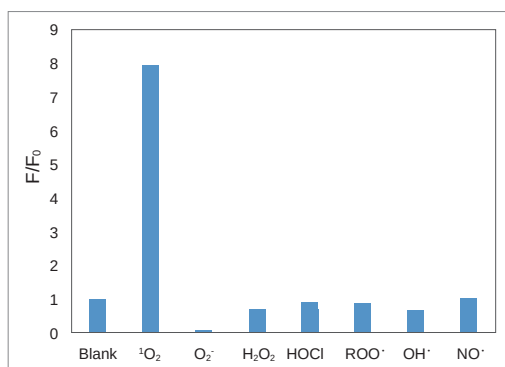
最新情報はこちら



活性酸素種の一つであり非常に強い酸化力を持つ一重項酸素は、皮膚のシミやしワの原因となることが知られており、化粧品分野ではこの一重項酸素を消去する化合物の探索が進められています。Si-DMA は、容易に細胞膜透過しミトコンドリアに集積後、選択的に一重項酸素と応答して強い蛍光を発します。



反応選択性

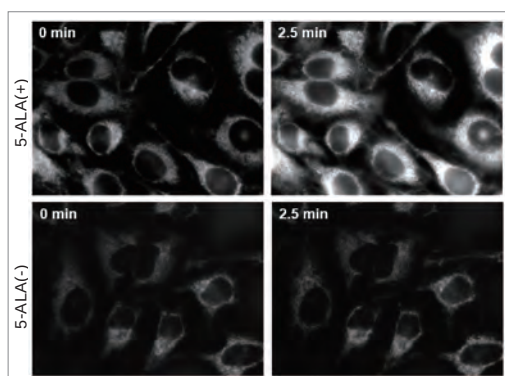


各種活性酸素種および活性窒素種への応答性を比較したところ、Si-DMA は一重項酸素に選択的に応答を示し、蛍光強度比が 8 倍以上増加することが確認されました。

■ 比較条件

PBS (pH7.4) : メタノール = 1 : 1
Si-DMA : 終濃度 1 μmol/l
ROS : 10 mmol/l
RNS : 10 mmol/l

5-ALA 処理後の一重項酸素検出例



HeLa 細胞への 5-aminolevulinic acid(5-ALA) 処理により、ミトコンドリア内でプロトポルフィリン IX を生成。蛍光顕微鏡の励起光照射により発生した一重項酸素に Si-DMA が応答したことを確認しました。

■ 検出条件

575 - 625 nm (Ex)、660 - 710 nm (Em)

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging	2 μg [*]	¥20,600	341-91911	MT05

^{*} <使用回数を目安> μ-silde 8 well : 22-90 枚

ミトコンドリアを 長時間染め続ける

ミトコンドリア蛍光染色試薬

MitoBright LT Series Green / Red / DeepRed

MT10 同仁 検索

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

利用装置



最新情報はこちら



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。

MitoBright LT シリーズの特徴

長時間 細胞に滞留する

血清入りの培地で染色できる

お客様の声

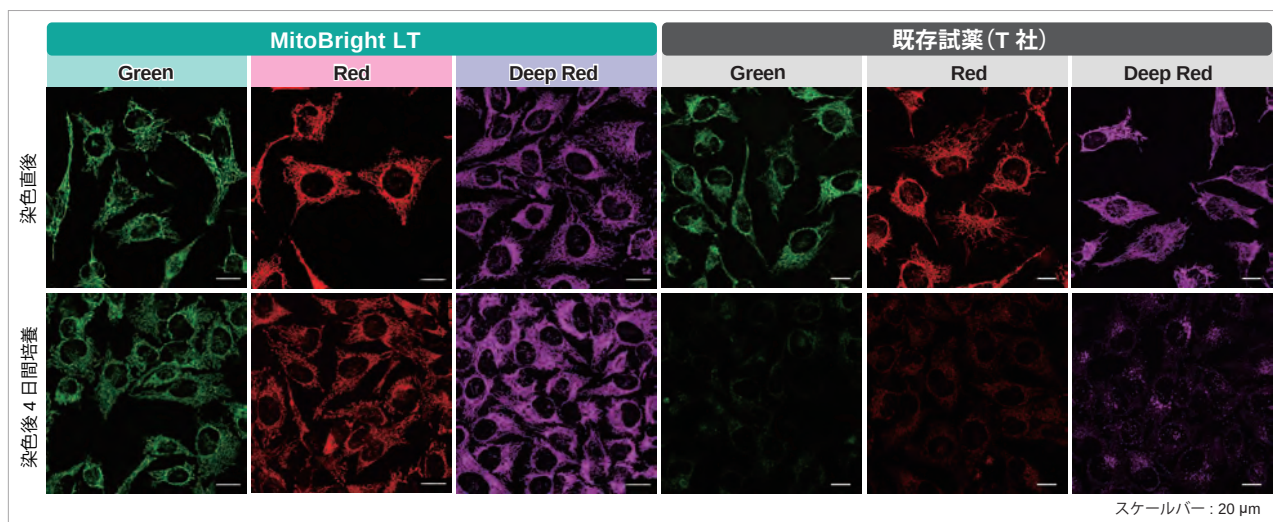
- ✓ 3 日以上 of 細胞内滞留性が必要
- ✓ 血清入り培地で染色したい

従来の課題を解決

既存の低分子のミトコンドリア試薬では、ミトコンドリアの長期的な観察をする際に課題がありました。MitoBright LT はそのようなお客様の声を元に製品化しました。

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 日間培養後ミトコンドリアを観察しました。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 は 7 日後もミトコンドリアに滞留していることが確認されました。(細胞種等の条件により滞留時間は異なります。)



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
MitoBright LT Green	20 μ l $\times$ 1	¥ 6,000	340-92064	MT10
	400 μ l $\times$ 1	¥ 12,000	346-92061	
	400 μ l $\times$ 3	¥ 30,000	342-92063	
MitoBright LT Red	20 μ l $\times$ 1	¥ 6,000	347-92074	MT11
	400 μ l $\times$ 1	¥ 12,000	349-92073	
	400 μ l $\times$ 3	¥ 30,000	343-92071	
MitoBright LT Deep Red	20 μ l $\times$ 1	¥ 6,000	344-92084	MT12
	400 μ l $\times$ 1	¥ 12,000	340-92081	
	400 μ l $\times$ 3	¥ 30,000	346-92083	

<使用回数の目安> 35 mmdish : 10 枚 (20 μ l)、200 枚 (400 μ l)

オートファジーを手軽に検出

オートファゴソーム検出蛍光試薬

DAPGreen - Autophagy Detection

DAPRed - Autophagy Detection



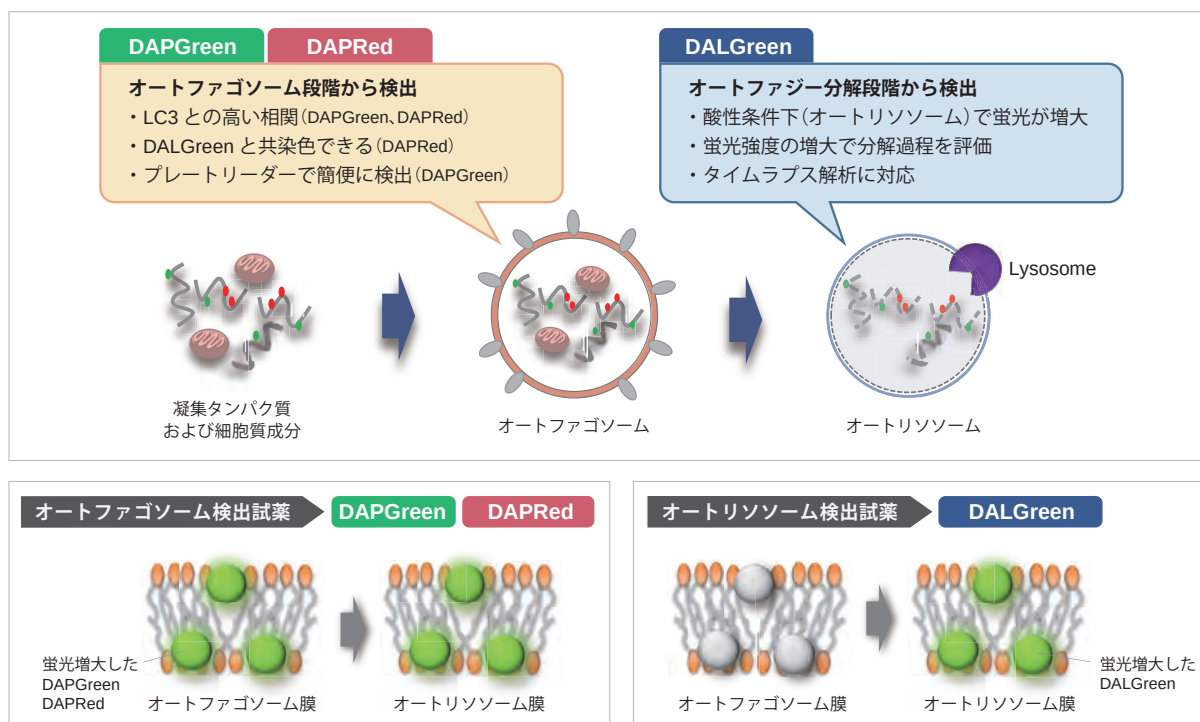
オートリソソーム検出蛍光試薬

DALGreen - Autophagy Detection



オートファジー 同仁 検索

オートファジーは、細胞内の不要なタンパク質・細胞内小器官等の再利用や代謝のための分解機構としての様々な疾患への関与が示唆されています。DAPRed, DAPGreen, DALGreen は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段階で蛍光を発します。この様に 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。



検出試薬の概要

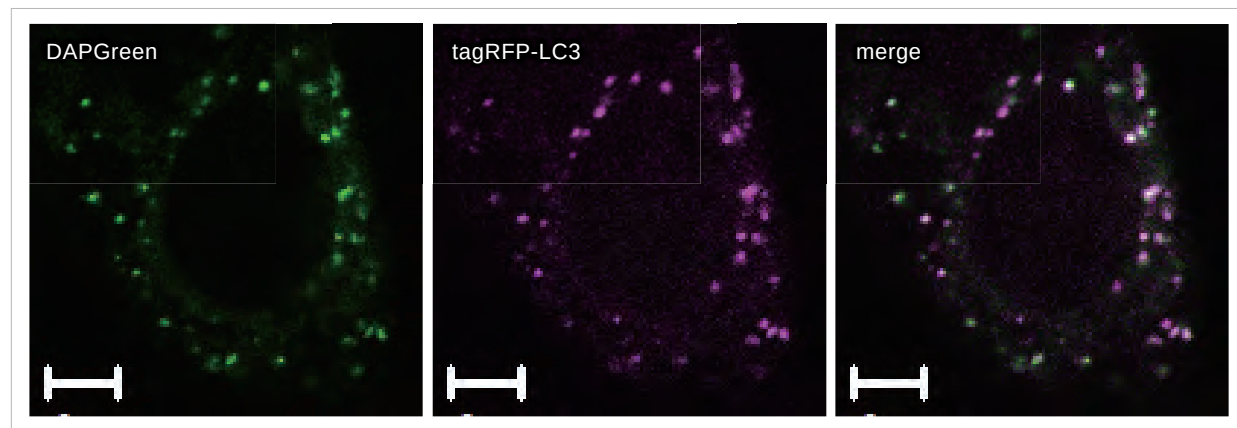
ご使用の装置で検出可能な蛍光特性を確認の上、ご使用ください。

	対応装置			蛍光特性	容量 / 使用回数の目安	既存検出法
	蛍光顕微鏡	フローサイトメーター	プレートリーダー			
DAPGreen	○	○	○	Ex. 425-475 nm Em. 500-560 nm ※ 共焦点顕微鏡では 488 nm にて励起可能	5 nmol x 1 / 35 mm dish: 25 枚分 (0.1 μmol/l で使用時)	LC3-GFP MDC Cyto-ID など
DAPRed	○	×	×	Ex. 500-560 nm Em. 690-750 nm	5 nmol x 1 / 35 mm dish: 25 枚分 (0.1 μmol/l で使用時)	
DALGreen	○	○	×	Ex. 350-450 nm Em. 500-560 nm ※ 共焦点顕微鏡では 488 nm にて励起可能	20 nmol x 1 / 35 mm dish: 10 枚分 (1.0 μmol/l で使用時)	LC3-GFP-RFP など

LC3 との高い相関

DAPGreen

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



結果

DAPGreen と、LC3 が共局在する結果が得られました。

オートファジー誘導条件

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

検出条件

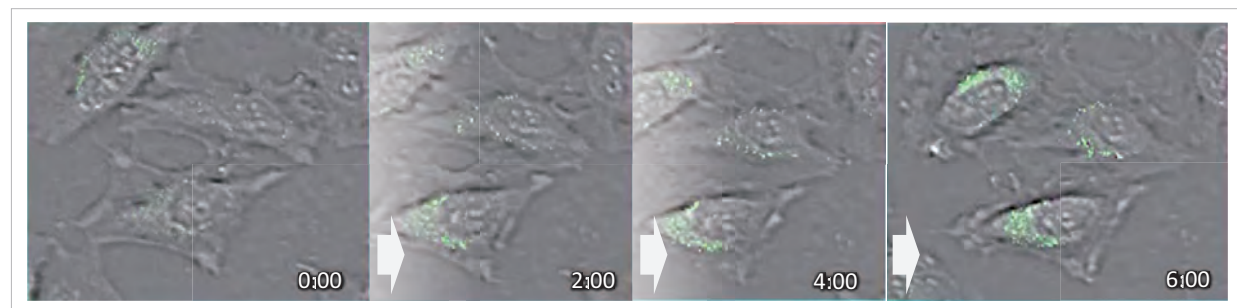
DAPGreen : 488 nm (Ex)、500-563 nm (Em)
スケールバー : 10 μ m

タイムラプスで検出

DALGreen

タイムラプス動画を、小社 HP で公開中！

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



結果

オートファジーを誘導した細胞において、DALGreen の蛍光の増大が確認されました。

オートファジー誘導条件

Ex. 405 / Em. 525/50 共焦点イメージングサイトメーター (横河電機株式会社: CQ1)

検出条件

DALGreen で染色後の HeLa 細胞をアミノ酸不含培地に培養を開始し、6 時間までの細胞および蛍光像の変化を観察しました。

さらに理解を深める

DAPGreen

DALGreen

この製品を利用した論文が公開

DAPGreen および DALGreen の詳細な測定原理や実験例を HP に掲載しています。(オープンアクセスの論文です。)

H. Iwashita, H. T. Sakurai, N. Nagahora, M. Ishiyama, K. Shioji, K. Sasamoto, K. Okuma, S. Shimizu and Y. Ueno,
"Small fluorescent molecules for monitoring autophagic flux", *FEBS Lett.*, **2018**, 592 (4), 559-567.

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
 DAPGreen - Autophagy Detection	5 nmol	¥36,000	340-09291	D676
 DAPRed - Autophagy Detection	5 nmol	¥36,000	340-09551	D677
 DALGreen - Autophagy Detection	20 nmol	¥28,000	344-09191	D675



エクソソームを確かに見る

エクソソーム膜 蛍光染色キット

ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Green / Red / Deep Red

エクソソームタンパク質 蛍光染色キット

ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green / Red / Deep Red

エクソソーム 同仁

検索

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。

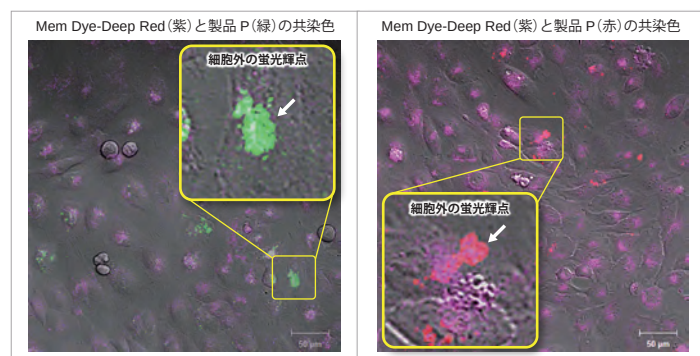
より正確にエクソソームの動態を観察する

エクソソームの膜を染色するためによく用いられている膜染色色素(S 社 製品 P)には、色素自体が凝集を起こし、エクソソームに由来しない蛍光起点が生じたり、エクソソームの性質変化やバックグラウンドの上昇などを招く課題が挙げられています^{1), 2)}。

ExoSparkler シリーズで用いている色素 (Mem Dye-Green, Red, Deep Red) は凝集を起こさず、エクソソームの性質にもほとんど影響を及ぼさないため、より正確にエクソソームの動態を観察することが可能です。

細胞外で凝集しない ExoSparkler シリーズ

Mem Dye-Deep Red または製品 P (緑または赤) で染色したエクソソームを HeLa 細胞へ添加し、細胞内へ取り込まれるエクソソームを蛍光顕微鏡で確認しました。その結果、製品 P (緑または赤) で染色したエクソソームにおいては、色素の凝集が疑われる細胞外の蛍光輝点を確認されました。



観察条件

Mem Dye-Deep Red (紫):

Ex 640 nm / Em 640-760 nm

S 社 製品 P (緑):

Ex 561 nm / Em 560-620 nm

S 社 製品 P (赤):

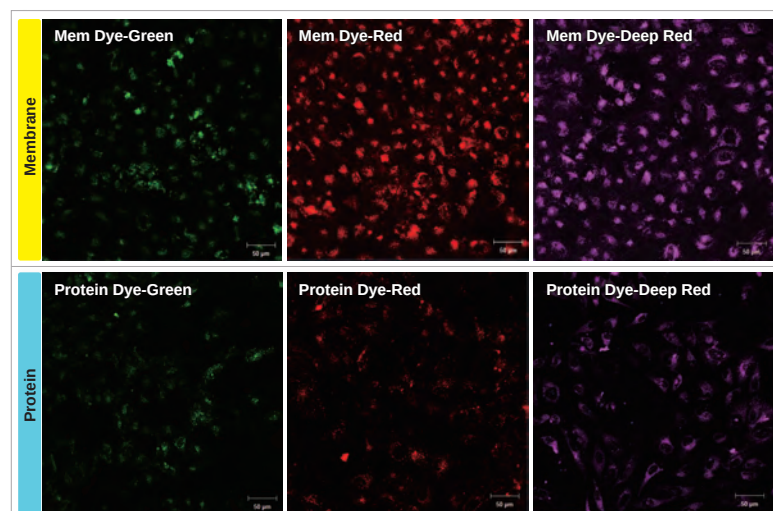
Ex 640 nm / Em 650-700 nm

参考文献

- 1) Mehdi Dehghani *et al.*, "Exosome labeling by lipophilic dye PKH26 results in significant increase in vesicle size", *bioRxiv.*, **2019**, doi:10.1101/532028.
- 2) Pužar Dominkuš P *et al.*, "PKH26 labeling of extracellular vesicles: Characterization and cellular internalization of contaminating PKH26 nanoparticles", *Biochim Biophys Acta Biomembr.*, **2018**, doi: 10.1016/j.bbamem.2018.03.013.

豊富なラインナップ

ExoSparkler は膜 (Mem Dye) またはタンパク質 (Protein Dye) を染色する蛍光色素として、各 3 色 (Green, Red, Deep Red) を取り揃えています。



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、洗浄後の蛍光画像を観察した。

検出条件

Green : Ex 488 nm / Em 490 - 540 nm

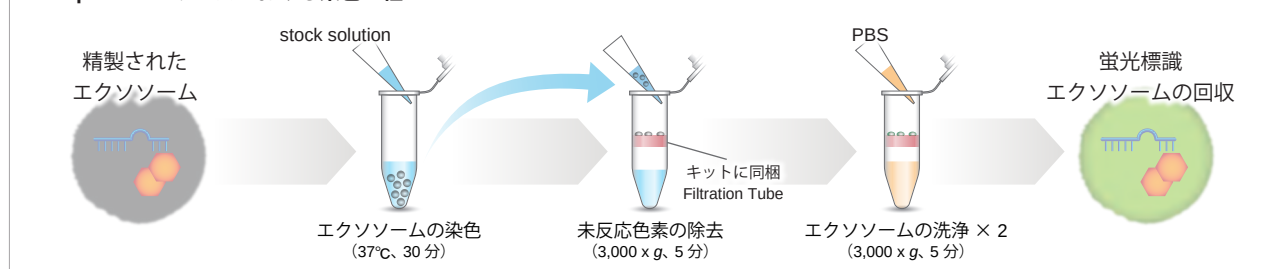
Red : Ex 561 nm / Em 570 - 640 nm

Deep Red : Ex 640 nm / Em 640 - 760 nm

このキットだけで蛍光標識から精製まで

ExoSparkler シリーズは、エクソソームの標識に最適化したプロトコルに加え、蛍光標識後の未反応色素を除去できるフィルトレーションチューブを同梱しているため、簡単な操作で蛍光標識エクソソームを調製できます。

ExoSparkler シリーズにおける染色工程



精製手法 (未反応色素の除去) の比較

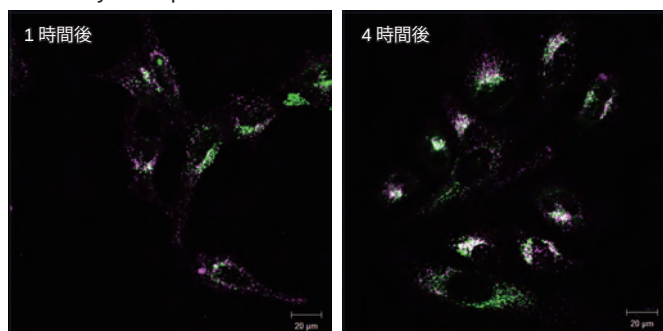
ExoSparkler シリーズで未反応色素の除去に使用しているフィルトレーションチューブは、同用途で従来から用いられているゲルろ過法と比較して、高い回収率でエクソソームを精製することが可能です。

	回収率※
フィルトレーションチューブ(本キット)	50% 程度
ゲルろ過法	10% 程度

※小社での実施例：精製前後のエクソソーム粒子数を NTA(ナノ粒子トラッキング解析)で比較

時間依存的なエクソソームの局在変化を見る

Mem Dye-Deep Red (紫) とリソソーム染色試薬 (緑) の共染色



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 Mem Dye-Deep Red(エクソソーム膜蛍光染色キット)で染色し、リソソーム染色試薬で染色した HeLa 細胞 (1.25×10^4 cells) に添加、1 時間後ならびに 4 時間後の蛍光画像を観察した。
結果、時間の経過に伴い Mem Dye-Deep Red の蛍光輝点 (紫) はリソソームの局在 (緑) と重なり (白)、時間依存的にエクソソームの局在が変化している様子が確認された。

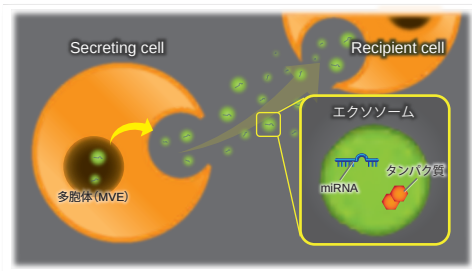
検出条件

Mem Dye-Deep Red : Ex 640 nm / Em 640-760 nm
リソソーム染色試薬 : Ex 488 nm / Em 490-540 nm

ラベル化エクソソームの利用

近年、細胞から分泌される細胞外小胞 (Extracellular vesicle ; EV) の一種であるエクソソームが、がんの悪性化や転移に促進的に寄与することが明らかとなり注目を集めています。

エクソソームによる細胞間コミュニケーションを解析するためには、細胞への取り込みをモニタリングする技術が重要であり、細胞外小胞の脂質二重膜やタンパク質を蛍光色素で染色する技術が汎用されています。



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Green	5 samples※	¥ 25,000	343-09661	EX01
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Red	5 samples※	¥ 25,000	340-09671	EX02
ExoSparkler Exosome Membrane Labeling Kit-Deep Red	5 samples※	¥ 25,000	347-09681	EX03
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Green	5 samples※	¥ 20,000	344-09691	EX04
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Red	5 samples※	¥ 20,000	347-09701	EX05
ExoSparkler Exosome Protein Labeling Kit-Deep Red	5 samples※	¥ 20,000	344-09711	EX06

※ 精製済エクソソーム (超遠心法) として、タンパク質 : 1-10 µg/sample、粒子数 : $10-100 \times 10^8$ 個/sample



脂肪滴が鮮やかに染まる

脂肪滴染色蛍光試薬

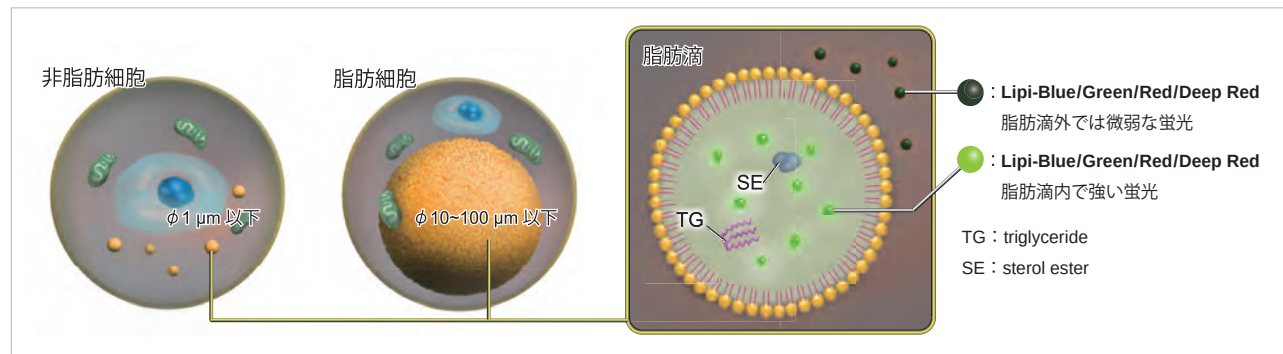
Lipi series Blue / Green / Red / Deep Red

LD01 同仁 検索

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。また、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。

脂肪滴とその機能

脂肪滴は、トリアシルグリセロールやコレステロールエステルなどの中性脂肪が単分層のリン脂質一重膜によって取り囲まれた構造体です。脂肪滴は脂肪細胞のみに存在するわけではなく、すべての細胞に普遍的に存在しています。最近の研究から、脂肪滴はその表面に種々のタンパク質が結合し、体内の脂質代謝制御において重要な役割を担っていることが明らかになってきています¹⁾。近年、脂肪滴とオートファジー²⁾、細胞老化³⁾といった細胞内現象との関連性も示唆されており、脂肪滴の形成・成長・融合・分解のメカニズムをより詳細に解明するツールが待ち望まれています。



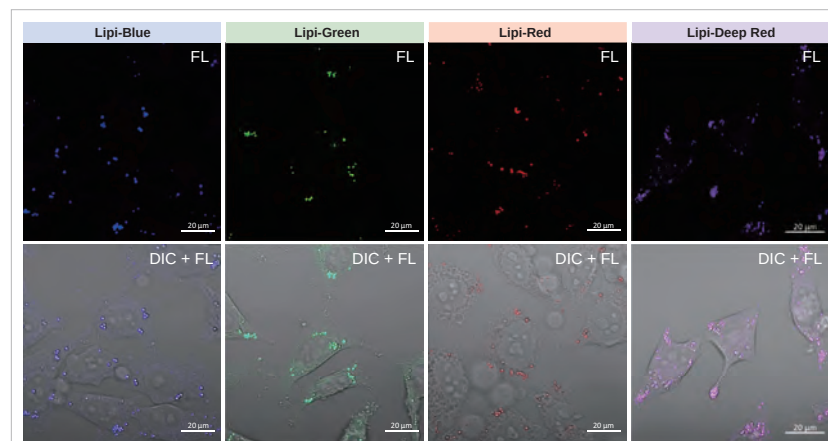
- 1) T. Fujimoto et al., "Lipid droplets: a classic organelle with new outfits" *Histochem Cell Biol.*, **2008**, 130(2), 263.
- 2) R. Singh et al., "Autophagy regulates lipid metabolism" *Nature*, **2009**, 458(7242), 1131.
- 3) M. Yokoyama et al., "Inhibition of endothelial p53 improves metabolic abnormalities related to dietary obesity" *Cell Reports*, **2014**, 7(5), 1691.

Lipi series の原理・実績を説明した論文が公開されました。

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**, DOI: 10.1021/acs.biochem.8b01071.

脂肪滴の染色例

オレイン酸を添加した HeLa 細胞を生細胞の状態、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 シリーズの各色素 Lipi-Blue/ Green/Deep Red : 0.1 μmol/l、Lipi-Red : 1 μmol/l にて 15 分間染色し観察。

上段 蛍光画像
下段 位相差像とのマージ画像

検出条件

Lipi-Blue : 405 nm (Ex)、450 - 500 nm (Em)
Lipi-Green : 488 nm (Ex)、500 - 550 nm (Em)
Lipi-Red : 561 nm (Ex)、565 - 650 nm (Em)
Lipi-Deep Red : 640 nm (Ex)、650 - 700 nm (Em)
スケールバー : 20 μm

市販試薬との比較

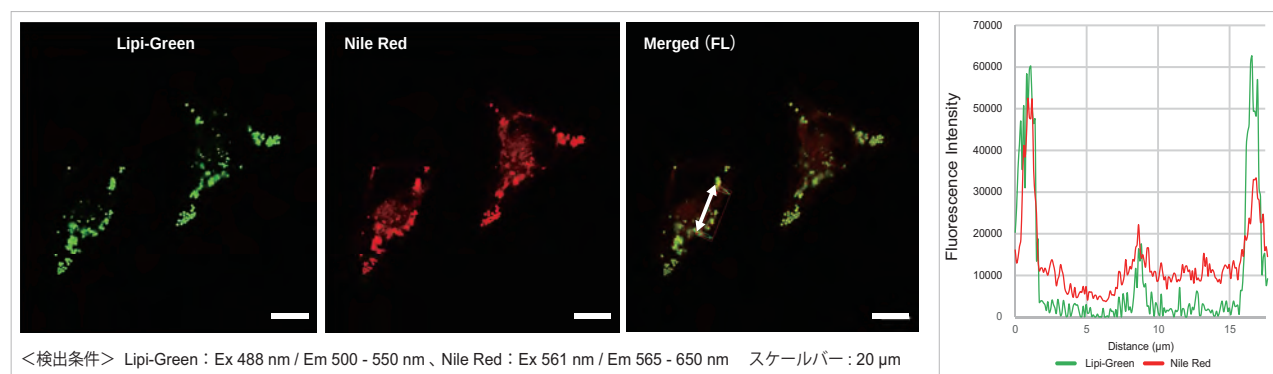
Lipi シリーズでは、既存の脂肪滴染色試薬の課題（選択性、フィルター適応性、滞留性）を大幅に改善しました。また色素ラインナップの充実により、多重染色時の色素選択が容易に行えるようになりました。

製品名	同仁化学製品				市販品 (T 社)		
	Lipi-Blue	Lipi-Green	Lipi-Red	Lipi-Deep 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	○	○	○	○	n.d.	×*	○
生細胞内での滞留性 (24 時間)	○	○	×	×	n.d.	×	×

*GFP フィルターに漏れ込む

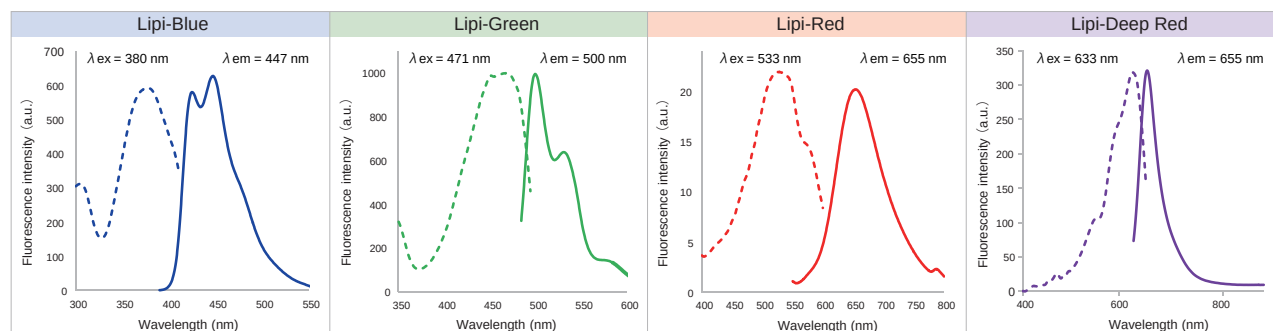
脂肪滴への高い選択性

オレイン酸を添加した HeLa 細胞を生細胞の状態で、100 nmol/l Lipi-Green および 100 nmol/l Nile Red (T 社) にて染色しました。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 では脂肪滴以外にも染色されました。



Lipi シリーズの蛍光特性

Lipi シリーズでは生細胞・固定化細胞で使用可能な 4 種類の蛍光色素を取り揃えています。実験系に合わせた観察波長の選択が可能です。



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Lipi-Blue	10 nmol ※	¥18,000	345-09361	LD01
Lipi-Green	10 nmol ※	¥18,000	342-09371	LD02
Lipi-Red	100 nmol ※	¥18,000	349-09381	LD03
Lipi-Deep Red	10 nmol ※	¥18,000	342-09631	LD04

※ <使用回数の目安> Lipi-Blue / Green / Red : 6-62 枚 (μ-Slide 8 well)、Lipi-Deep Red : 12-62 枚 (μ-Slide 8 well)

脂肪滴を手早く見る方法

脂肪滴測定キット：数値化

Lipid Droplet Assay Kit Blue / Deep Red

LD05 同仁 検索

利用装置

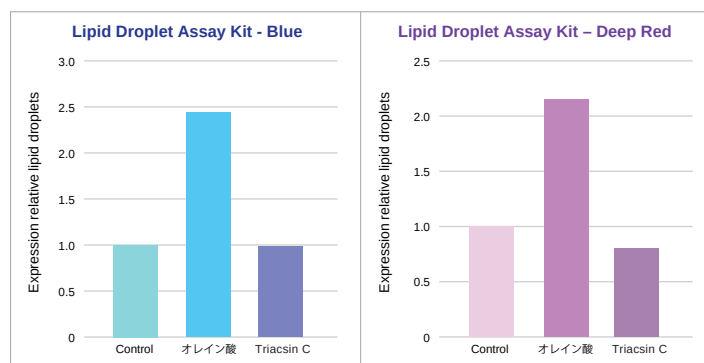


最新情報はこちら



Lipi シリーズを用いて脂肪滴の量的変動を数値化できるキットをご用意しました。プレートリーダーまたはフローサイトメーターの使用が可能です。

プレートアッセイによる実験例



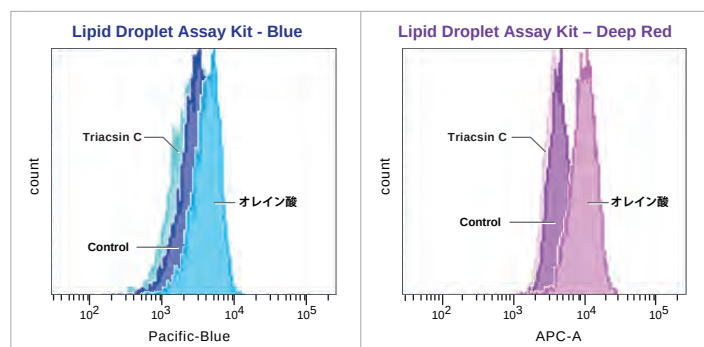
A549 細胞にオレイン酸または脂肪滴の形成阻害剤である Triacsin C を添加し、Lipid Droplet Assay Kit を用いて脂肪滴の量的変動を数値化しました。

結果、コントロールならびに Triacsin C を加えた細胞と比較して、オレイン酸を添加した細胞で脂肪滴の量が増加していることを確認しました。

検出条件

Blue : Ex 376 - 386 nm, Em 435 - 455 nm
Deep Red : Ex 623 - 633 nm, Em 649 - 669 nm

フローサイトメトリーによる実験例



HeLa 細胞にオレイン酸または脂肪滴の形成阻害剤である Triacsin C を添加し、Lipid Droplet Assay Kit を用いて脂肪滴の量的変動を数値化しました。

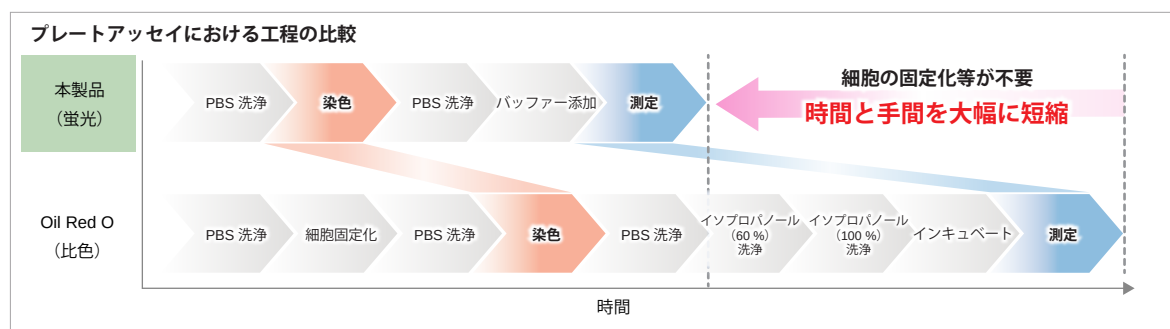
結果、コントロールならびに Triacsin C を加えた細胞と比較して、オレイン酸を添加した細胞で脂肪滴の量が増加していることを確認しました。

検出条件

Blue : Ex 405 nm, Em 425 - 475 nm
Deep Red : Ex 640 nm, Em 650 - 670 nm

操作を大幅に短縮 生細胞も使用可能

Lipid Droplet Assay Kit で用いる蛍光色素は、生細胞ならびに固定化細胞での使用が可能です。そのため、比色試薬を用いた方法と比較して測定に必要な時間を大幅に短縮することができます。また、プレートに色素が沈着しないため、実験の再現性を高めることが可能です。



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Lipid Droplet Assay Kit - Blue	1 set ※	¥ 25,000	349-09641	LD05
Lipid Droplet Assay Kit - Deep Red	1 set ※	¥ 25,000	346-09651	LD06

※＜使用回数の目安＞ 96 well plate : 1 枚分、フローサイトメトリー : 40 アッセイ分

過酸化脂質だけを見る

過酸化脂質検出蛍光試薬

Liperfluo

L248 同仁 検索

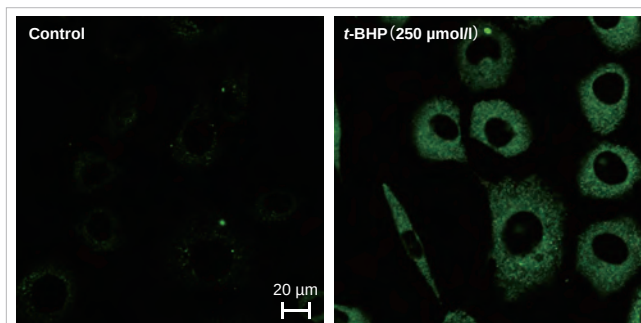
利用装置



最新情報はこちら



生細胞を用いた過酸化脂質のイメージング



L929 細胞を用い細胞内の過酸化脂質の変化を、共焦点顕微鏡により観察しました。実験の詳細は小社 HP に掲載しています。

検出条件

装置：Zeiss LSM510META

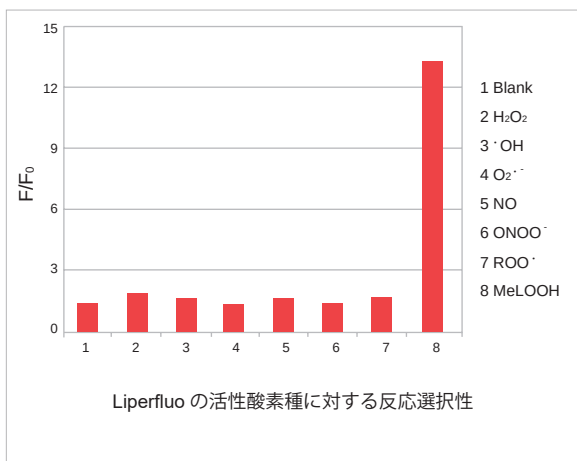
フィルターセット：FITC (GFP, Alexa488) wide filter

HFT UV/488

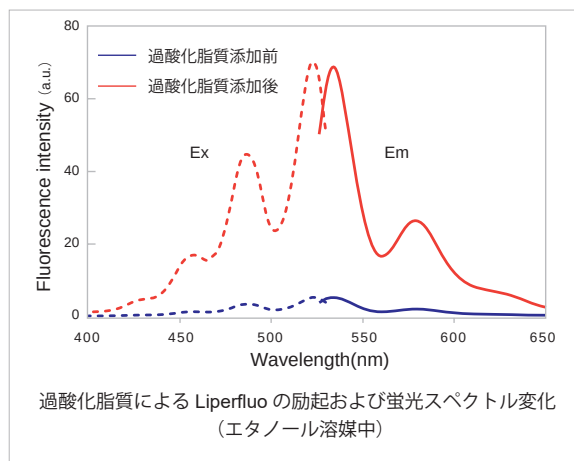
NFT490

BP505-550

過酸化脂質への高い選択性

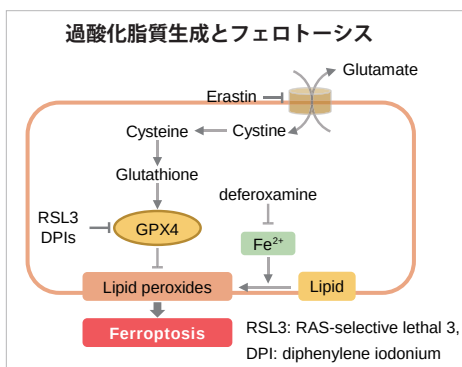


蛍光特性



フェロトーシス研究での評価例

細胞死メカニズムの一つとして注目を集めるフェロトーシス研究において Liperfluo が使われています。



Liperfluo を用いた論文

※最新論文および論文へのリンクは小社 HP をご覧ください。

サンプル(フェロトーシス誘導法)	論文情報タイトル
ヒト気管支上皮細胞 (RSL3 及び菌培養上清の添加)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> utilizes host polyunsaturated phosphatidylethanolamines to trigger theft-ferroptosis in bronchial epithelium.
マウス繊維芽細胞 (RSL3 の添加)	Oxidized arachidonic and adrenic PE s navigate cells to ferroptosis.
HeLa 細胞 (Erastin 又は Brefeldin A の添加)	Golgi stress mediates redox imbalance and ferroptosis in human cells.

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Liperfluo	1 set (50 μg × 5) ※	¥21,200	345-91551	L248

※ <使用回数の目安> 50 μg あたり、5-50 回(保存不可)

細胞内の鉄だけを 光らせる

利用装置



最新情報はこちら



細胞内鉄イオン測定試薬

FerroOrange

F374 同仁

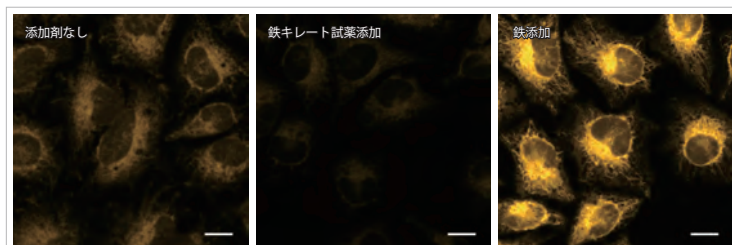
検索

FerroOrange は、細胞内の鉄を簡便に検出可能な試薬です。試薬を培養細胞へ添加するだけで細胞膜を透過し、細胞内の Fe^{2+} と選択的に反応し強い蛍光を発します。

高感度だから内在性の鉄も検出できる

HeLa 細胞を用いて、細胞内に内在する Fe^{2+} および鉄キレート試薬 Bpy (2,2'-bipyridine、終濃度：100 $\mu\text{mol/l}$) と鉄 (硫酸アンモニウム鉄 (II)、終濃度：100 $\mu\text{mol/l}$) の添加有無により、細胞内の Fe^{2+} の変化を FerroOrange により確認しました。

蛍光顕微鏡によるイメージング



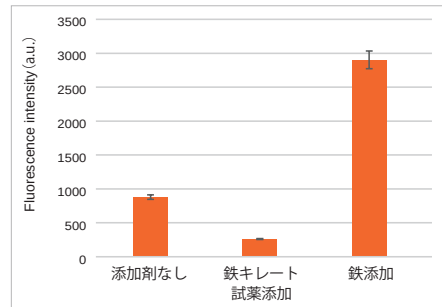
鉄キレート試薬を添加することで無刺激の細胞に比べ蛍光強度が低下したことから、細胞内には内在性の Fe^{2+} が存在することが確認できました。

検出条件

Ex : 561 nm、Em : 570-620 nm

スケールバー：20 μm

プレートアッセイにより簡便に数値化

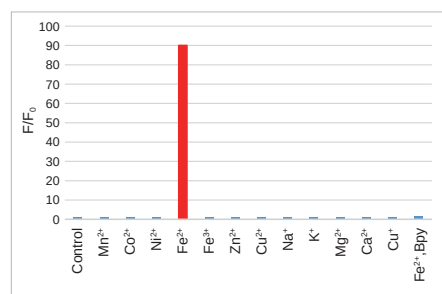


鉄キレート試薬および鉄の添加による細胞内の Fe^{2+} 量の変化を数値データとして確認できました。

検出条件

Ex : 543 nm、Em : 580 nm

Fe^{2+} への高い選択性

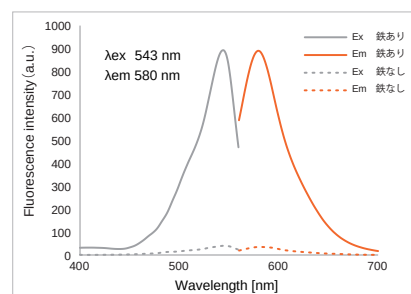


検出条件

Ex : 543 nm、Em : 580 nm

50 mmol/l HEPES Buffer (pH7.4) 1 ml 中に 1 mmol/l FerroOrange 2 μl 、10 mmol/l 各種金属 2 μl を加え室温にて 1 時間反応後の蛍光強度を測定。

蛍光特性



50 mmol/l HEPES Buffer (pH7.4) 3 ml 中に 1 mmol/l FerroOrange 6 μl 、10 mmol/l 硫酸アンモニウム鉄 (II) 6 μl を加え 37°C にて 1 時間反応後の蛍光強度を測定。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
FerroOrange	1 tube ※	¥14,000	342-09533	F374
	3 tubes ※	¥32,000	346-09531	

※ <使用回数の目安> 1 tube あたり、 μ -slide 8 well : 20 枚

一次抗体法で 免疫実験の幅が広がる



抗体標識キット

Dojindo Labeling Kit series

抗体標識 同仁 検索

DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

Dojindo Labeling Kit series はお手持ちの一次抗体に直接蛍光色素やビオチン、酵素を標識できるキットです。

一次抗体法のココがいい！

少ないステップ

ステップ①
ブロッキング

ステップ②
一次抗体反応

二次抗体は
必要ありません。

交差性を気にしない

二次抗体法
同種の一次抗体が
使えない……

一次抗体法
同種の一次抗体が
使える！

免疫沈降に便利

非特異検出を回避

二次抗体法
分子量
50,000
免疫グロブリンのバンドと
重なる可能性あり

一次抗体法
目的のタンパク質
のみを検出

ラインナップと製品コード一覧

製品を使用した論文を、各製品ページよりご覧いただけます。

ビオチン	サンプル量・種類	標識対象	品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード	解析方法
ビオチン	10 µg 抗体	-NH ₂	Ab-10 Rapid Biotin Labeling Kit *	3 samples	¥ 18,000	348-92021	LK37	顕微鏡 FCM プレートリーダー ウェスタンブロット
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Biotin Labeling Kit -NH ₂ *	3 samples	¥ 13,200	347-90891	LK03	
		-SH	Biotin Labeling Kit -SH	3 samples	¥ 13,200	348-90941	LK10	
	1 mg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Biotin Labeling Kit -NH ₂ (for 1mg)	1 sample	¥ 23,000	344-91141	LK55	
	1-5 mg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Biotinylation Kit (Sulfo-OSu) *	1 set (4 回)	¥ 41,200	346-90621	BK01	
蛍光色素	サンプル量・種類	標識対象	品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード	解析方法
Fluorescein	10 µg 抗体	-NH ₂	Ab-10 Rapid Fluorescein Labeling Kit *	3 samples	¥ 24,000	343-91851	LK32	顕微鏡 FCM
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Fluorescein Labeling Kit -NH ₂ *	3 samples	¥ 22,800	347-90911	LK01	
HiLyte Fluor™	10 µg 抗体	-NH ₂	Ab-10 Rapid HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit -NH ₂ *	3 samples	¥ 24,000	347-91991	LK35	
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	HiLyte Fluor™ 555 Labeling Kit -NH ₂ *	3 samples	¥ 22,800	348-91041	LK14	
		-NH ₂	Ab-10 Rapid HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 24,000	344-92001	LK36	
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	HiLyte Fluor™ 647 Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 22,800	345-91051	LK15	
ICG	1-5 mg 抗体・タンパク質	-NH ₂	ICG Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 49,200	345-91431	LK31	
蛍光タンパク質	サンプル量・種類	標識対象	品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード	解析方法
R-Phycoerythrin	10 µg 抗体	-NH ₂	Ab-10 Rapid R-Phycoerythrin Labeling Kit *	3 samples	¥ 28,000	347-91871	LK34	顕微鏡 FCM
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	R-Phycoerythrin Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 47,000	347-91011	LK23	
		-SH	R-Phycoerythrin Labeling Kit-SH	3 samples	¥ 44,400	344-91021	LK26	
Allophycocyanin	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Allophycocyanin Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 47,000	349-90971	LK21	FCM
		-SH	Allophycocyanin Labeling Kit-SH	3 samples	¥ 44,400	346-90981	LK24	
酵素	サンプル量・種類	標識対象	品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード	解析方法
Peroxidase	10 µg 抗体	-NH ₂	Ab-10 Rapid Peroxidase Labeling Kit *	3 samples	¥ 19,000	340-91861	LK33	顕微鏡 プレートリーダー ウェスタンブロット
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Peroxidase Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 18,800	348-90821	LK11	
		-SH	Peroxidase Labeling Kit-SH	3 samples	¥ 18,800	345-90831	LK09	
Alkaline Phosphatase	1 mg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Peroxidase Labeling Kit -NH ₂ (for 1mg) *	1 sample	¥ 32,800	340-91121	LK51	プレートリーダー ウェスタンブロット
	50-200 µg 抗体・タンパク質	-NH ₂	Alkaline Phosphatase Labeling Kit-NH ₂ *	3 samples	¥ 22,800	343-90871	LK12	
		-SH	Alkaline Phosphatase Labeling Kit-SH	3 samples	¥ 22,800	346-90861	LK13	

※ 標識操作により、抗体中のアミノ基に標識体が結合します。そのため抗体によっては抗原認識能が失われる場合があります。ご不明な点は、小社カスタマーサポートへお問合せ下さい。

細胞増殖・細胞毒性の スタンダード

利用装置



試薬選択ガイド



細胞増殖 / 細胞毒性測定キット

Cell Counting Kit-8

CK04 同仁

検索

細胞毒性測定キット

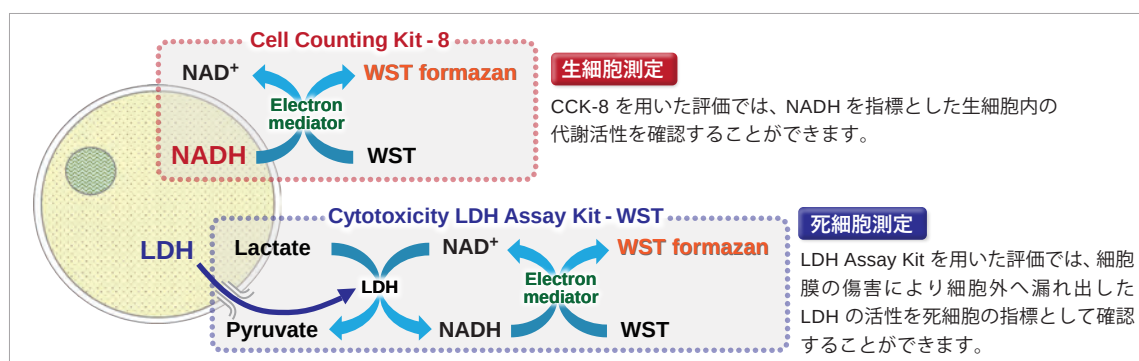
Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST

CK12 同仁

検索

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) は、同仁化学研究所が開発した WST 法で細胞内代謝活性を指標に生細胞を測定するキットです。測定の手軽さ、試薬の長期安定性、再現性の高さなどの点から細胞増殖試験や細胞毒性試験など幅広く利用されています。Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST (LDH Assay Kit) 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で、細胞毒性を測定するキットです。なお LDH アッセイ法は、細胞毒性を測定する際に CCK-8 (WST 法) や MTT 法などと併せて用いられるケースが増えています。CCK-8 と LDH アッセイ法のセット製品の詳細は次ページを参照ください。

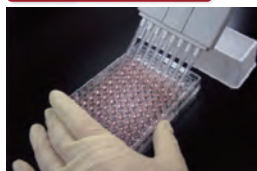
測定原理



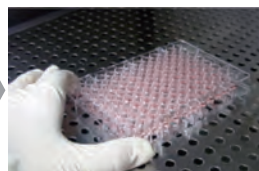
操作

Cell Counting Kit-8

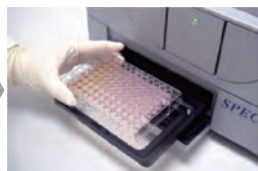
培養細胞へ試薬を添加するだけで培地の色が変化します。



CCK-8 を添加



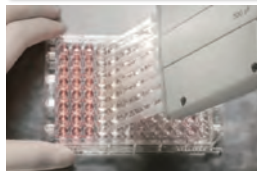
1~4 時間インキュベート



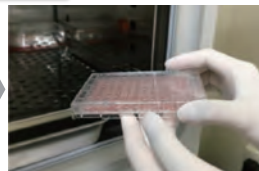
吸光度 (450 nm) を測定

Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST

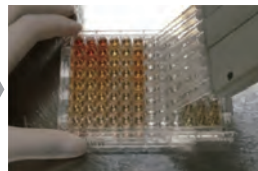
培養上清を使った評価もでき、残りの細胞は他アッセイに利用できます。



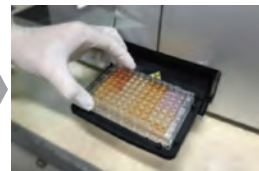
Working Solution 添加
(高コントロールのみ 30 分前に
Lysis Buffer を添加)



発色反応 (30 分間)



Stop Solution 添加により
反応停止



吸光度 (490 nm) 測定

品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Cell Counting Kit-8	100 回用	¥ 5,400	341-07761	CK04
	500 回用	¥ 13,600	347-07621	
	2,500 回用	¥ 37,800	343-07623	
	5,000 回用	¥ 70,000	-	
	10,000 回用	¥ 102,000	341-08001	
Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST	100 tests	¥ 9,800	347-91751	CK12
	500 tests	¥ 26,200	343-91753	
	2,000 tests	¥ 39,200	341-91754	

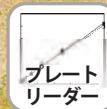
2つの指標から 細胞毒性を測る

細胞増殖・細胞毒性アッセイキット

Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit

CK17 同仁 検索

利用装置



最新情報はこちら



優れたコストパフォーマンス

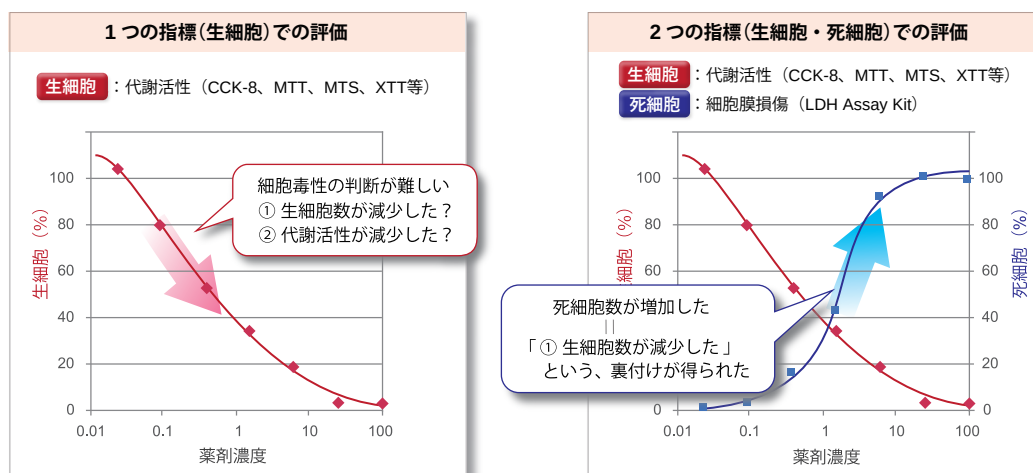
生細胞測定 (CCK-8)、死細胞測定 (Cytotoxicity LDH Assay Kit) のそれぞれ 500 tests 包装のセットです。
初めて細胞増殖測定・細胞毒性測定を行う方へスターターキットとしても、お求めやすい価格になりました。

品名	容量	価格
Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit *	500 tests	¥29,800
※セット内容		
・生細胞測定 Cell Counting Kit-8	500 回用	¥13,600
・死細胞測定 Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST	500 tests	¥26,200

セットで
お得!

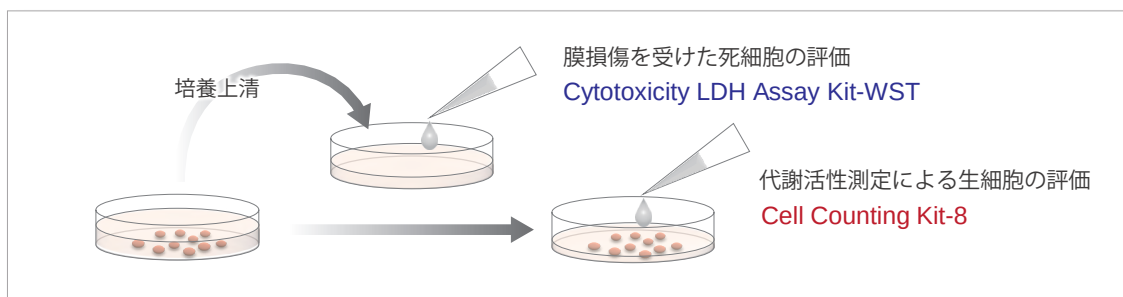
2つの指標で評価する理由

細胞傷害性を確認する際、生細胞のみ又は死細胞のみを指標とした評価では、データの信頼性が十分でない場合もあることから、測定原理の異なる複数の指標で評価することで実験の裏付けを行うケースが増えています。



同じ細胞サンプルが使える

本キットは、生細胞測定用として Cell Counting Kit-8 (CCK-8)、死細胞測定用として Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST (LDH Assay Kit) をセットにしており、何れも同じ吸光度波長でのプレートアッセイで評価できます。また同じ細胞サンプルを使い一度に生細胞と死細胞を評価できるため手間と時間を抑えることができます。



品名	容量	希望納入価格	和光コード	製品コード
Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit	500 tests	¥ 29,800	346-09271	CK17

利用装置から探す



プレートリーダー

SA-β-gal 検出（プレートアッセイ）	… 6
核小体検出	… 8
グルコース測定	… 12
乳酸測定	… 12
グルタミン測定	… 14
グルタミン酸測定	… 14
ミトコンドリア膜電位検出	… 16
オートファゴソーム検出	… 23
オートリソソーム検出	… 23
脂肪滴測定	… 29
細胞内鉄イオン測定	… 31
細胞増殖/ 毒性測定	… 33
細胞毒性測定	… 33
生細胞・死細胞測定	… 34



フローサイトメトリー

SA-β-gal 検出（イメージング・FCM）	… 5
細胞周期測定	… 10
ミトコンドリア膜電位検出	… 16
ミトコンドリア染色	… 22
オートファゴソーム検出	… 23
オートリソソーム検出	… 23
エクソソーム膜 蛍光染色	… 25
エクソソームタンパク質 蛍光染色	… 25
脂肪滴測定	… 29
一次抗体標識	… 32



蛍光顕微鏡

SA-β-gal 検出（イメージング・FCM）	… 5
γH2AX 検出	… 7
核小体検出	… 8
細胞数補正	… 9
ミトコンドリア膜電位検出	… 16
マイトファジー検出	… 17
ミトコンドリア染色	… 22
オートファゴソーム検出	… 23
オートリソソーム検出	… 23
エクソソーム膜 蛍光染色	… 25
エクソソームタンパク質 蛍光染色	… 25
脂肪滴染色	… 27
過酸化脂質検出	… 30
細胞内鉄イオン測定	… 31
一次抗体標識	… 32



ウェスタンブロット

一次抗体標識	… 32
--------	------



はじめました

@dojindoInfo

■ 同仁化学のサポートは、製品のご利用前から

「実験系に沿った製品情報が知りたい」、「これから行う実験に利用できるキットがあるのか…」など、ご質問もお気軽にどうぞお問合せください。

カスタマーサポート FreeDial：0120-489-548 URL：www.dojindo.co.jp



1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。

2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2020年2月)における希望納入価格です。予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。

3) 試験・研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。

国内販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

URL：fwwk.fujifilm.co.jp

Free Dial：0120-052-099

Free Fax：0120-052-806

製造元・国内問合せ先

株式会社 同仁化学研究所

Free Dial：0120-489-548

URL：www.dojindo.co.jp

Tel：096-286-1515(代表)

E-mail：info@dojindo.co.jp

ドージン・イースト(東京)

Tel：03-3578-9651(代表)

取扱店