

# 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

γH2AX 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り、γH2AX を指標とした論文報告や実験例をご紹介します。

### 本キットの 3 つの特徴

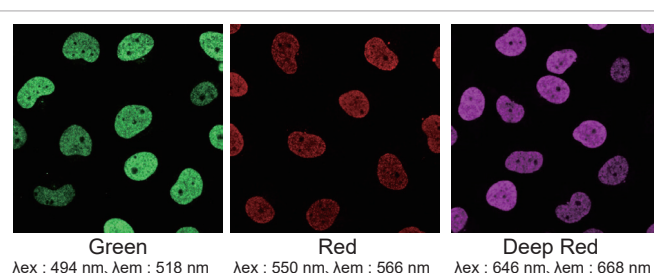
#### 必要な試薬がセットに

オールインワンなので、すぐに評価できます。



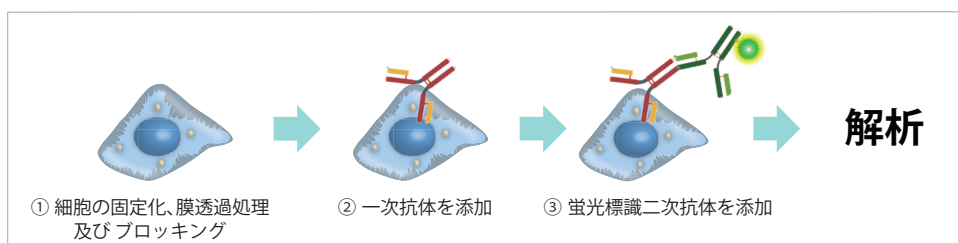
#### 3 色のラインナップ

多重染色時に適した色が選択できます。



#### 3 ステップの簡便な操作

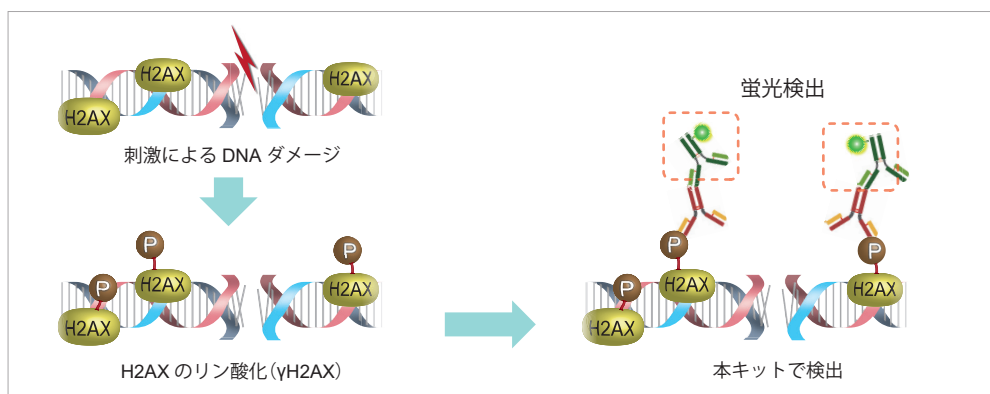
細胞の固定化と膜透過処理後、キットに同梱している試薬の添加と洗浄操作だけで染色できます。



### γH2AX とは

DNA ダメージにより二重鎖切断が生じると、ヒストンタンパク質の一種である H2AX が速やか、かつ広範囲にわたってリン酸化されます。リン酸化 H2AX(γH2AX) は、DNA ダメージの鋭敏なマーカーであることから、化学物質や活性酸素、紫外線や放射線などの遺伝毒性及び発がん性評価への応用が期待されています。また、γH2AX の検出は近年では細胞老化を評価する指標としても知られています。

本製品はモノクローナル抗体研究所製の抗γH2AX 抗体を使用しています。



本キットを用いた DNA ダメージの検出原理

## 細胞老化の指標

細胞老化を評価する際は、複数の老化マーカーを指標に解析する必要があります。右に示したマーカーは細胞老化研究分野で広く用いられており、中でもγH2AXはDNAダメージを伴う老化を判断する際に汎用されています。既に小社で販売しているSA-β-gal検出キットとγH2AX検出キットを併用することで、細胞老化を判断する裏付けのデータとして活用できます。

\* 参考文献 : R. Salama *et al.*, *Genes & Dev.*, **2014**, 28, 99.

### 細胞老化の指標 \*

- DNA damage response  
ex. **γH2AX**, ATM, .etc
- **SA-β-gal** (senescence-associated beta-galactosidase)
- CDKis (cyclin-dependent kinase inhibitor)  
ex. p16, p21 .etc
- p53
- SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype)  
ex. IL6, IL8 .etc
- 他

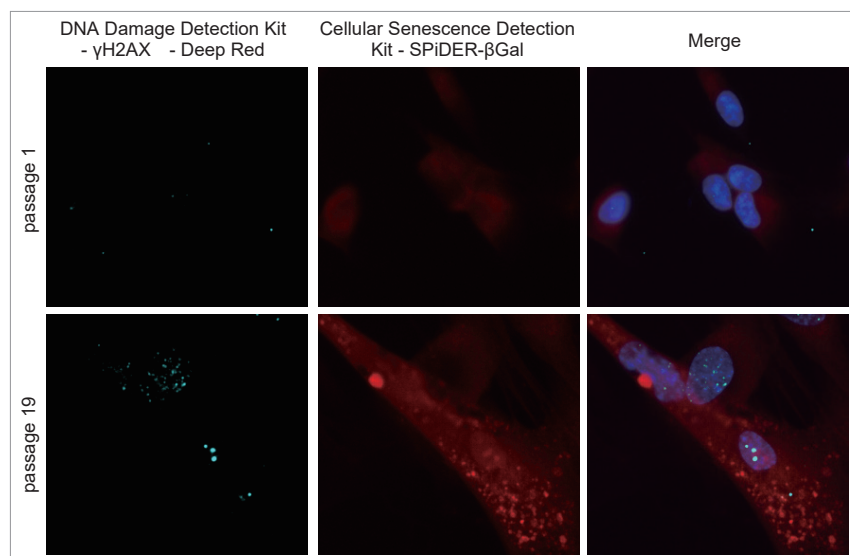
## 研究報告例

老化細胞を評価している報告例を紹介します。論文の詳細は小社 HP をご覧ください。

| 解析対象                      | 論文概要                                                                         |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| γH2AX, SA-β-gal, p16, p21 | ・オートファジー欠損した衛生細胞で細胞老化が認められ、逆にオートファジー誘導剤の添加で細胞老化は抑えられた。                       |
| γH2AX, SA-β-gal, p21      | ・二型糖尿病モデルにて、細胞老化の活性亢進と DNA 損傷レベルの増加を確認した。                                    |
| γH2AX, SA-β-gal           | ・特定のタンパク質 (BRE) を欠損させたマウス線維芽細胞において細胞老化の亢進が見られた。                              |
| γH2AX, SA-β-gal, p16, p21 | ・クロマチン構造変異複合体の一つである SMARCD1 の減少を促すパルミチン酸を処理した HepG2 細胞において、細胞老化の亢進が見られた。     |
| γH2AX, SA-β-gal, p16      | ・DNA 修復に関わる Ercc1 遺伝子欠損マウスにおいては、自発的におきる DNA 損傷だけで ROS レベルが上昇し、細胞老化の亢進も確認された。 |

## 他マーカーと組合せた細胞の評価例

継代数の異なる 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 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。



### <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) : Ex. 590-650 nm / Em. 663-738 nm  
SA-β-gal : Ex. 533-557 nm / Em. 570-640 nm  
DAPI : Ex. 340-380 nm / Em. 435-485 nm

| 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  |

## SA-β-gal 検出キット

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

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

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

WI-38 細胞 (継代数 10)

緑色：本キットによる SA-β-gal 染色  
赤色：YH2AX 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)

Number of Cells

Fluorescence intensity

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アッセイ**

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

細胞を洗浄し  
細胞溶解

試薬添加後  
30 分反応

プレートリーダー

反応停止後に  
蛍光測定

Fluorescence intensity

継代数 3      継代数 19

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。

| 品 名                                               | 容 量                   | 希望納入価格                 | 和光コード                  | 製品コード |
|---------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-------|
| Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal   | 10 assays             | ¥ 38,000-              | 347-09181              | SG03  |
| Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal | 20 tests<br>100 tests | ¥ 11,000-<br>¥ 32,000- | 345-09501<br>341-09503 | SG05  |

## 核小体染色試薬

Nucleolus Bright は RNA 選択的な色素で核小体を可視化できます。

**Nucleolus Bright Green/ Nucleolus Bright Red**  
**核小体の变化を老化細胞で解析**

- ・ 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

Nucleolus Bright Green

Nucleolus Bright Red

WI-38 細胞

Passage 3

Passage 18

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。

## ヒストン修飾検出キット

エピジェネティクスの一つであるヒストン修飾を一次抗体法で簡便に検出できます。

**Anti H3K9me3 antibody-Green**  
**ヒストン修飾の変化を老化細胞で解析**

- ・ ヒストン修飾を一細胞レベルで解析
- ・ 検出に必要な試薬がセットに

H3K9me3

DAPI

Merge

WI-38 細胞

Passage 3

Passage 18

継代数の異なる WI-38 細胞を用い、本製品及び DAPI 染色より一細胞レベルで解析。

| 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  |
| Anti H3K9me3 antibody-Green | 1 set     | ¥ 42,000- | 344-09451 | H419  |

※ 35 mm dish : 30 枚分 (色素濃度 1 μmol/l で使用時)

# 酸化ストレス検出試薬のラインナップ

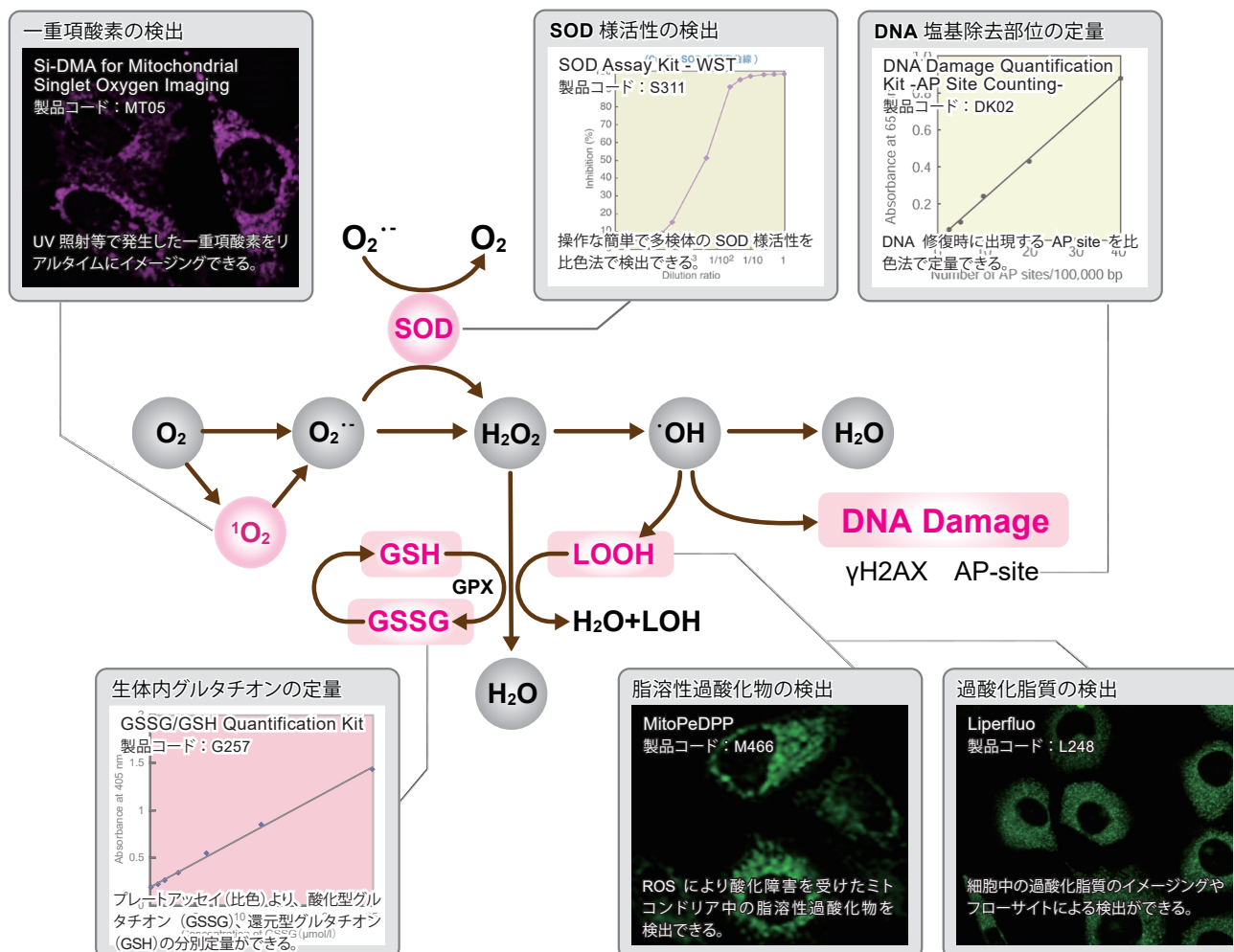


小社では、酸化ストレス検出試薬を各種取り揃えています。各製品の測定例やプロトコルについては、小社 HP をご覧ください。

キーワードで検索

製品コード 同仁

検索



| 品 名                                                               | 容 量        | 希望納入価格    | 和光コード     | 製品コード |
|-------------------------------------------------------------------|------------|-----------|-----------|-------|
| SOD Assay Kit - WST                                               | 500 tests  | ¥ 22,900- | 345-90191 | S311  |
| GSSG/GSH Quantification Kit                                       | 200 tests  | ¥ 53,200- | 342-09011 | G257  |
| Si-DMA for Mitochondrial Singlet Oxygen Imaging                   | 2 µg       | ¥ 20,000- | 341-91911 | MT05  |
| MitoPeDPP                                                         | 5 µg × 3   | ¥ 18,600- | 346-91721 | M466  |
| Liperfluor                                                        | 50 µg × 5  | ¥ 20,600- | 345-91551 | L248  |
| -Nucleostain- DNA Damage Quantification Kit<br>-AP Site Counting- | 20 samples | ¥ 74,200- | 346-90143 | DK02  |

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。

2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2018 年 11 月)における希望納入価格です。予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。

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

## 国内販売元

### 富士フイルム 和光純薬株式会社

URL : ffwk.fujifilm.co.jp Free Dial : 0120-052099 Free Fax : 0120-052806

## 製造委託元・国内問合せ先

### 株式会社 同仁化学研究所

URL : www.dojindo.co.jp E-mail : info@dojindo.co.jp

Free Dial : 0120-489548 Tel : 096-286-1515(代表)

受付時間 9:00-17:00(土日祝日を除く)

## ドージン・イースト(東京)

Tel : 03-3578-9651(代表)

## 開発元

### DOJINDO MOLECULAR TECHNOLOGIES, INC.

30 W Gude Dr. Suite 260, Rockville, MD 20850, USA

URL : www.dojindo.com

E-mail : info@dojindo.com

## 取扱店