

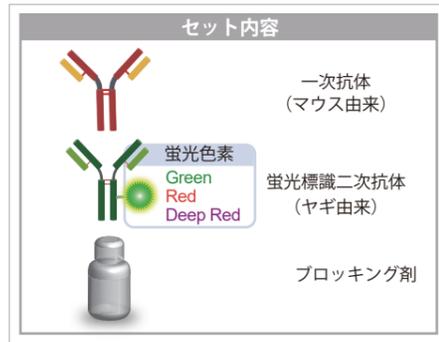
## DNA Damage Detection Kit - γH2AX

### DNAダメージの変化を老化細胞で解析

手軽に DNA ダメージを評価できるよう、抗γH2AX 抗体を用いた検出キットを蛍光波長の異なる 3 種類のラインナップをご用意しました。ヒストン H2AX がリン酸化された γH2AX は、抗がん剤、放射線、紫外線、化学物質等の外部ストレスによる DNA 損傷のマーカーとして幅広く用いられており、近年では細胞老化を評価する手段としての報告も増加傾向にあります。

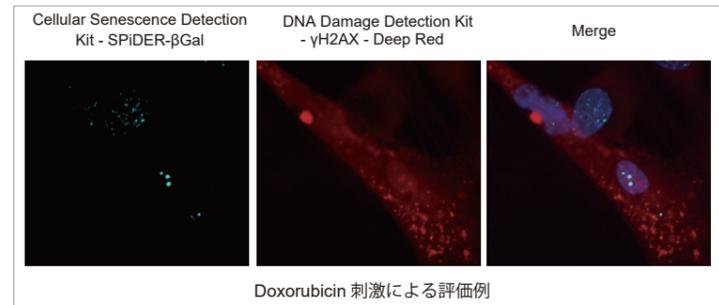
#### 必要な試薬はキットに同梱

オールインワンなので、すぐに評価できます。



#### 老化誘導細胞の評価例

WI-38 細胞へ Doxorubicin を添加後、本キット (Deep Red) にてγH2AX、Cellular Senescence Detection Kit - SPIDER-βGal にて SA-β-gal を検出しました。



品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
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

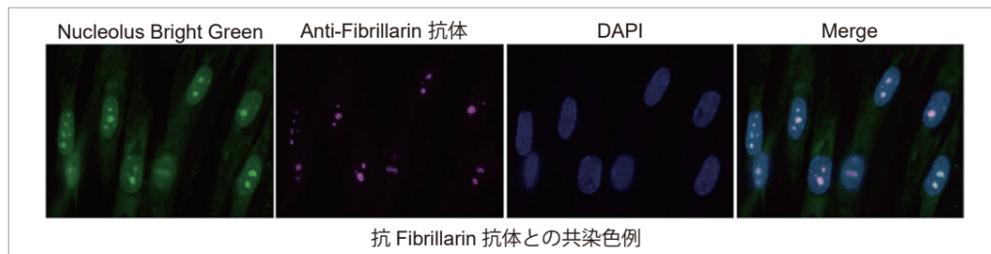
## Nucleolus Bright Green/ Nucleolus Bright Red

### 核小体の変化を老化細胞で解析

Nucleolus Bright は RNA 選択的に結合し蛍光性となる低分子蛍光色素で、固定化細胞に添加するだけで簡単にイメージングできます。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されています。近年は DNA 損傷、オートファジー、細胞老化への関連性が報告され、注目を集めています。

#### 核小体への局在性確認

WI-38 細胞を 4% PFA にて固定化後、本試薬 (Green) および核小体中の膜タンパクを抗原とした抗 Fibrillarin 抗体による免疫染色、核染色試薬 (DAPI) にて染色後に観察しました。



<検出条件>  
Nucleolus Bright Green  
Ex. 450-490 nm / Em. 500-550 nm  
DAPI  
Ex. 340-380 nm / Em. 435-485 nm  
Anti-Fibrillarin 抗体  
Ex. 590-650 nm / Em. 668-733 nm

品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Nucleolus Bright Green	60 nmol	¥ 28,000	341-09341	N511
Nucleolus Bright Red	60 nmol	¥ 28,000	348-09351	N512

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。

発売元  
**富士フイルム 和光純薬株式会社**

FreeDial : 0120-052-099    FreeFax : 0120-052-806  
URL : ffwk.fujifilm.co.jp

製造元・国内問合せ先  
**株式会社同仁化学研究所**

Tel : 096-286-1515 (代表)    FreeDial : 0120-489-548  
URL : www.dojindo.co.jp    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

# 老化細胞を様々な指標で見る

## 老化細胞検出キット・試薬

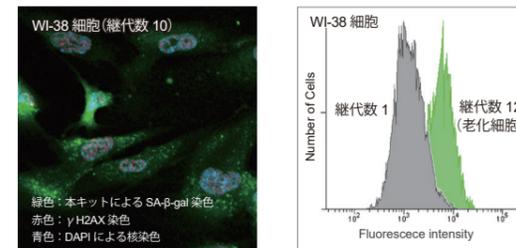
細胞の生存および死をコントロールするために備わったアポトーシスやネクローシス、オートファジー、細胞老化は、細胞内機能を理解するうえで非常に重要です。中でも細胞老化は、近年ガン化因子として知られる SASP の発見や、Stem cell 分野での老化現象の発見が認められるなど、各分野で重要視されてきています。

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

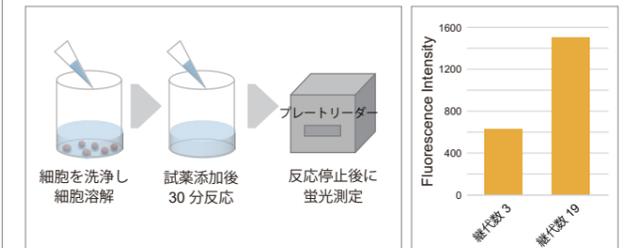
- X-gal では困難だった定量解析が容易に
- 生細胞、固定化細胞の SA-β-gal 活性を検出



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

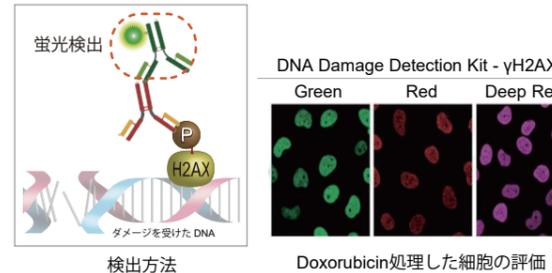
- 簡便な操作で SA-β-gal 活性を数値化
- マイクロプレートによる多検体処理



継代数の異なる WI-38 細胞を用い SA-β-gal 発現量の違いで数値化。

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

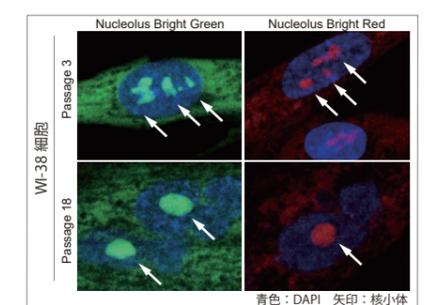
- γH2AX を指標に DNA ダメージを評価
- 蛍光波長の異なる 3 色をラインナップ



Doxorubicin 添加により、DNA ダメージを受けた細胞を解析

#### Nucleolus Bright Green/ Nucleolus Bright Red 核小体の変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



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

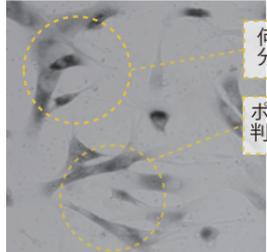
SG03 同仁 検索

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。代表的な SA-β-gal 検出試薬である X-gal は、固定化細胞のみに対応し、また比色染色のため目視により老化細胞を見分ける必要がありました。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

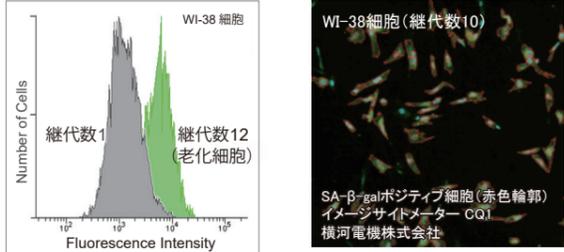
- 人によってポジティブ細胞の判断が異なる
- 実験毎のデータがバラつく



何個の細胞があるか分かりづらい  
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



WI-38細胞 (継代数10)  
継代数11 (老化細胞)  
継代数12 (老化細胞)

SA-β-galポジティブ細胞 (赤色輪郭)  
イメージングサイトメーター 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

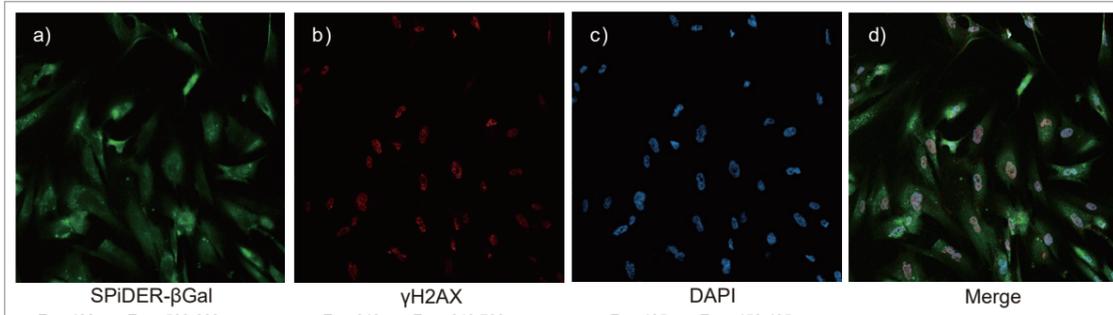
本キットでは生細胞にも固定化細胞にも適応でき、何れも染色操作は 30 分間で完了します。生細胞を用いた評価では、キットに同梱された 2 種の試薬をそれぞれ加え、インキュベーションするだけです。また固定化細胞を用いた場合でも、固定化後に 30 分の染色操作を行うだけで老化細胞を検出できます。



**解析**  
顕微鏡 FCM  
・蛍光顕微鏡  
・フローサイトメトリー

※ 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



a) SPiDER-βGal Ex: 488 nm, Em: 500-600 nm  
b) γH2AX Ex: 640 nm, Em: 640-700 nm  
c) DAPI Ex: 405 nm, Em: 450-495 nm  
d) Merge

ご要望が多かった本キットを用いた多重染色例をご紹介します。上記実験では、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、本キットによる SA-β-gal の検出 a)、異なる老化マーカーとしてγH2AX (DNA 損傷マーカー) の免疫染色 b)、更には全細胞の核染色 (DAPI) c) を行いました。結果、SA-β-gal とγH2AX の両老化マーカーで相関する結果が得られました d)。実験の詳細は、小社製品 HP にてご案内しています。

品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal	10 assay	¥ 39,000	347-09181	SG03

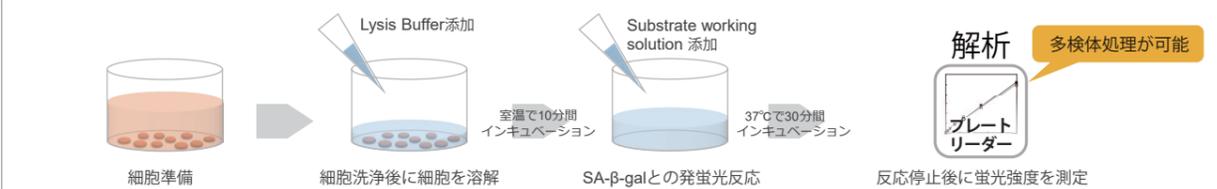
細胞老化をプレートアッセイで簡便に検出

SG05 同仁 検索

本キットは、β-galactosidase 検出試薬である SPiDER-βGal を採用し、プレートアッセイ法による簡便な SA-β-gal 活性の検出を実現しました。老化細胞の評価に広く用いられている 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

準備した細胞をキット同梱の Buffer で溶解し、蛍光基質 (SPiDER-βGal) 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。なおディッシュ (100 mm dish) 等で細胞を準備した場合でも、細胞溶解後に 96 ウェルプレートに移して頂くだけで評価頂けます。



細胞準備 → Lysis Buffer添加 (室温で10分 インキュベーション) → 細胞洗浄後に細胞を溶解 → Substrate working solution 添加 (37°Cで30分 インキュベーション) → SA-β-gal との発蛍光反応 → 反応停止後に蛍光強度を測定

**解析** プレートリーダー 多検体処理が可能

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 [コード: SG03] によるイメージング評価 (右図) を行いました。結果、継代数を重ねた細胞では、SA-β-gal の亢進が双方の解析結果で確認されました。



Fluorescence Intensity  
passage 3 passage 19  
プレートアッセイ

passage 3 passage 19  
イメージング評価

**プレートアッセイ (左図)**  
<検出条件>  
Ex. 535 nm / Em. 580 nm

**イメージング評価 (右図)**  
<検出条件>  
緑色: Ex. 488 nm / Em. 500-600 nm (Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal による SA-β-gal 染色)  
青色: Ex. 405 nm / Em. 450 - 495 nm (DAPI [コード: D523] による核染色)

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

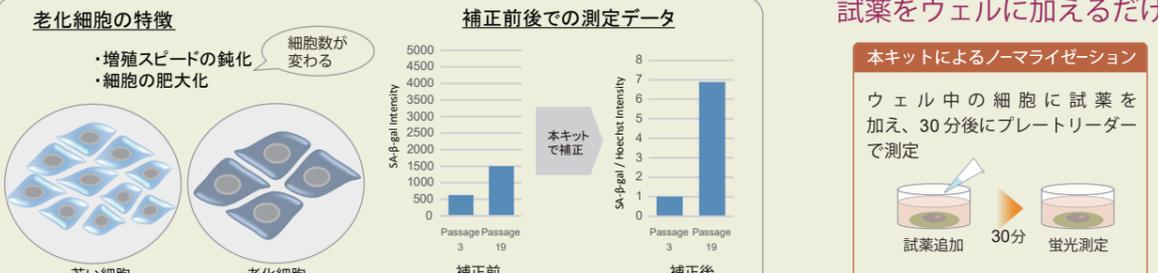
プレートアッセイ時の併用でデータ信頼性を向上

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。

老化細胞評価時のデータ補正例



**老化細胞の特徴**  
・増殖スピードの鈍化  
・細胞の肥大化  
細胞数が変わる

**補正前後での測定データ**  
補正前: SA-β-gal Intensity (Passage 3: ~500, Passage 19: ~1500)  
補正後: SA-β-gal / Nuclear Intensity (Passage 3: ~1, Passage 19: ~7)

**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  
試薬追加 → 30分 → 蛍光測定

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 1000 tests	¥ 8,000 ¥ 20,000	342-09393 346-09391	C544