

2つの指標から細胞毒性を測る

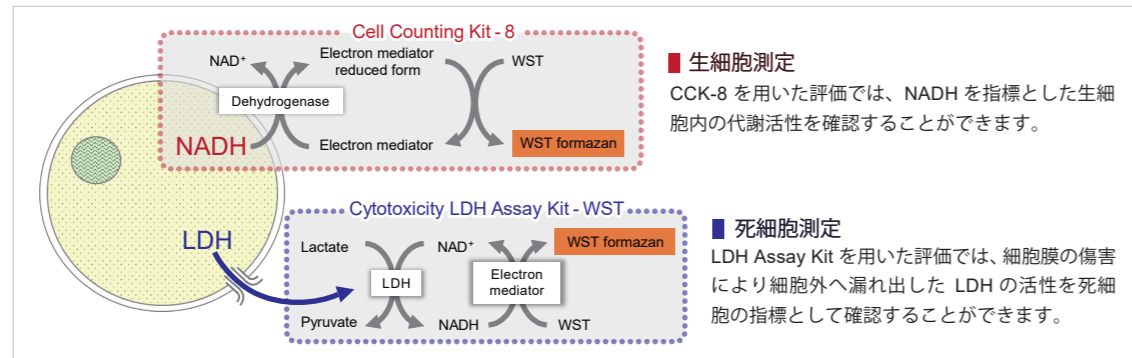
通常よりも
¥8,800-
セットでお得

生細胞と死細胞の測定キットがセットに
Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit

CK17 同仁 検索

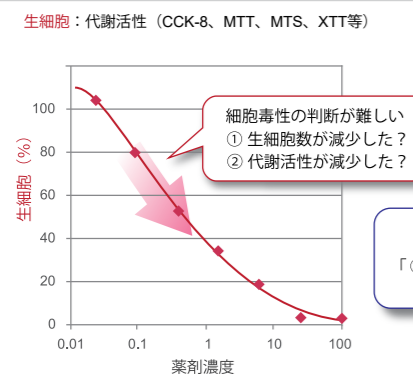
Cell Counting Kit-8 (CCK-8) は、細胞内代謝活性を指標に生細胞を測定するキットです。測定の手軽さ、試薬の長期安定性、再現性の高さなどの点から細胞増殖試験や細胞毒性試験など幅広く利用されています。LDH Assay Kit-WST は、細胞から培地中に放出された乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性を測定することで、細胞毒性を測定するキットです。なお LDH アッセイ法は、細胞毒性を測定する際に CCK-8 (WST 法) や MTT 法、WST 法などと併せて用いられるケースが増えています。

測定原理

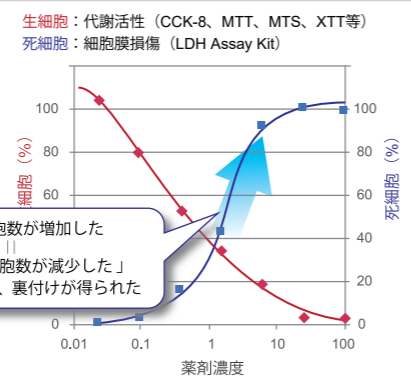


2つの指標で評価する理由

1つの指標(生細胞)での評価



2つの指標(生細胞・死細胞)での評価



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。

| 品名 | 容量 | 希望納入価格 | 和光コード | メーカーコード |
|--|-----------|----------|-----------|---------|
| Viability/Cytotoxicity Multiplex Assay Kit | 500 tests | ¥29,800- | 346-09271 | CK17 |

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5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)

取扱店

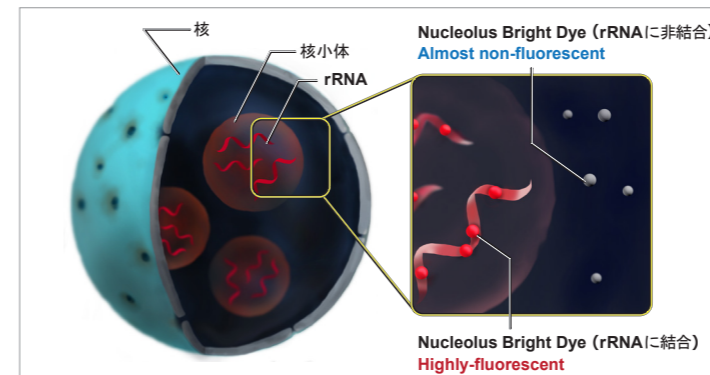
核小体を 老化細胞マーカーに

核小体染色試薬

Nucleolus Bright Green, Red

Nucleolus Bright は RNA に選択的に応答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。なお Nucleolus Bright は、核小体以外に存在する RNA にも反応しますが、細胞内に最も多く存在する RNA である rRNA の産生の際である核小体で特に強い蛍光を示します。

核小体を特定する検出原理

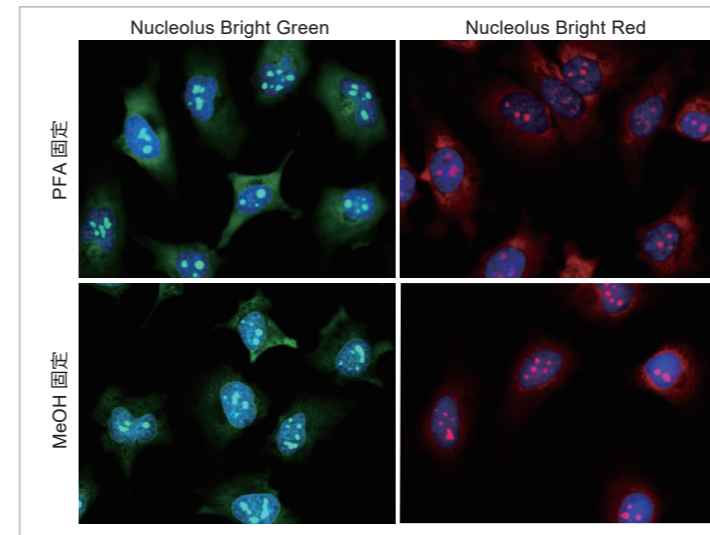


本製品は、熊本大学発生活医学研究所 細胞医学分野 中尾光善先生のご指導の下、製品化しました。

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、近年では核小体と DNA 損傷、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。

鮮やかに核小体を見る

HeLa 細胞を 4% PFA または MeOH にて固定化後、PBS 洗浄および膜透過処理 (Triton X-100) し、Nucleolus Bright Green または Red および核染色試薬 (DAPI) を添加、インキュベーション後に共焦点蛍光顕微鏡により観察しました。結果、DAPI により染色された核内(青)に複数個の核小体が存在することが確認されました。



<染色条件>

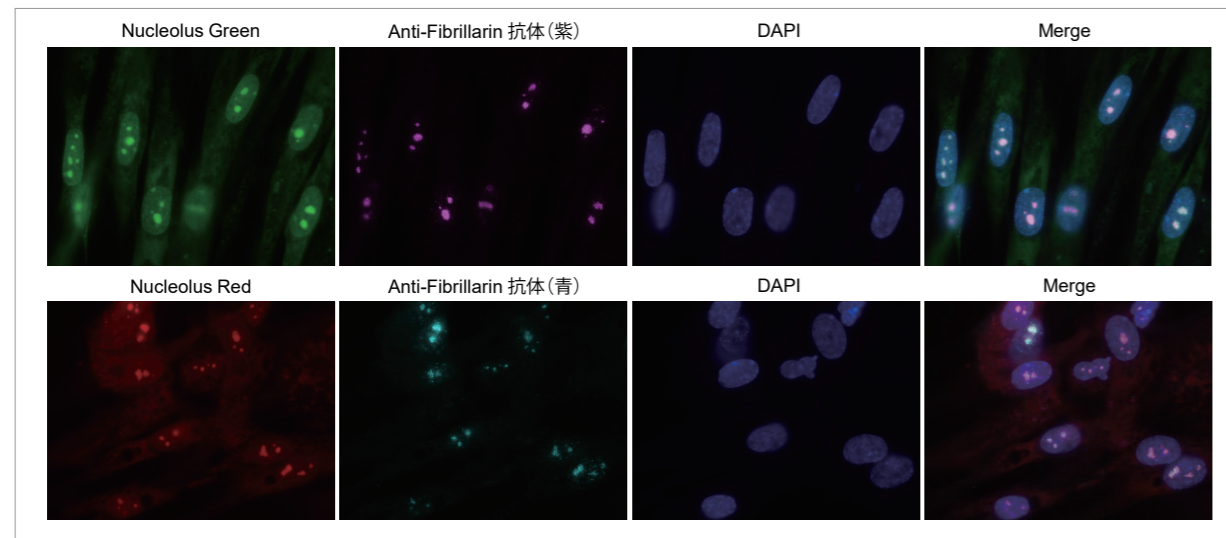
- ・PFA 固定
4% PFA に細胞を 5 分間、Triton X-100 に 20 分間浸漬後、各蛍光プローブにて 5 分間インキュベーション。
- ・MeOH 固定
冷 MeOH に細胞を 1 分間、Triton X-100 に 20 分間浸漬後、各蛍光プローブにて 5 分間インキュベーション。

<検出条件>

- ・Nucleolus Bright Green
Ex. 488 nm / Em. 500-600 nm
- ・Nucleolus Bright Red
Ex. 561 nm / Em. 565-650 nm
- ・DAPI
Ex. 405 nm / Em. 450-495 nm

核小体への局在性

WI-38 細胞を 4% PFA にて固定化後、抗 Fibrillarin 1 次抗体および蛍光標識 2 次抗体により免疫染色し、Nucleolus Bright Green または Red および核染色試薬 (DAPI) を添加、インキュベーション後に落射型蛍光顕微鏡 (キーエンス、BZ-X710) により観察しました。結果、Nucleolus Bright Green 及び Nucleolus Bright Red は、核小体マーカー (dense fibrillar component) と染色部位が一致しました。

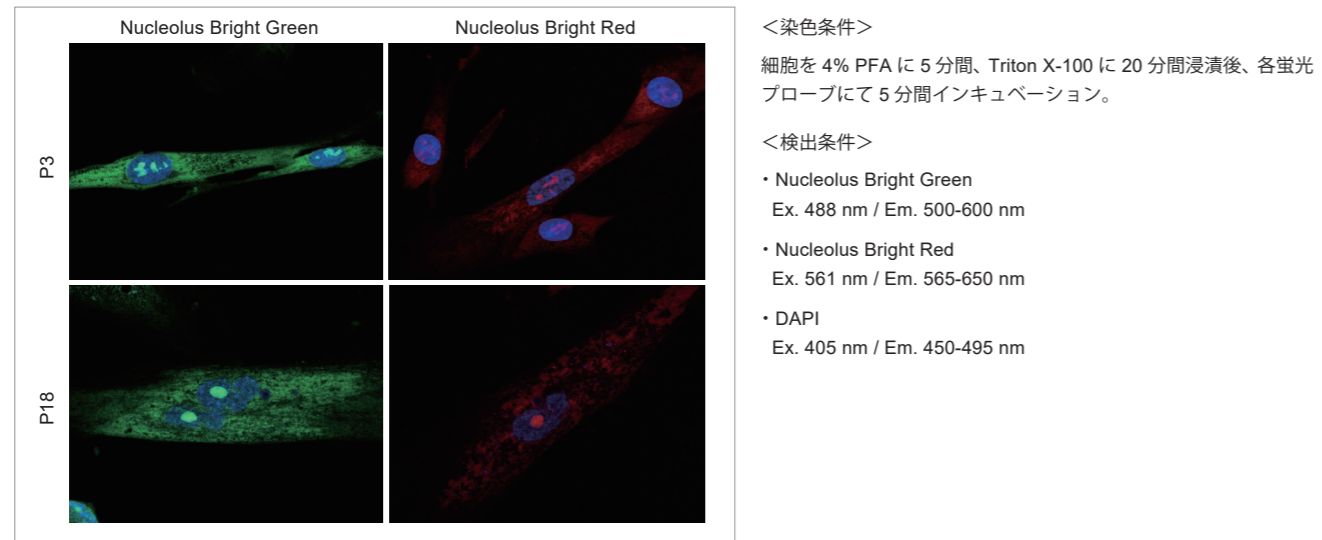


<検出条件> ・ Nucleolus Bright Green : Ex. 450-490 nm / Em. 500-550 nm ・ Nucleolus Bright Red : Ex. 533-548 nm / Em. 570-640 nm
 ・ DAPI : Ex. 340-380 nm / Em. 435-485 nm ・ Anti-Fibrillarin 抗体 : Ex. 590-650 nm / Em. 668-733 nm

老化細胞での評価例

継代数の異なる WI-38 細胞を 4% PFA にて固定化後、PBS 洗浄および 1% Triton X-100 により膜透過処理し、Nucleolus Bright Green または Red および核染色試薬 (DAPI) を添加、インキュベーション後に共焦点蛍光顕微鏡により観察しました。

結果、継代数 3 回の細胞 (P3) では 1 つの核に複数個の核小体が存在することが確認されましたが、継代を 18 回行った細胞 (P18) では核小体は肥大化し一つになっていることが確認されました。



<染色条件>
 細胞を 4% PFA に 5 分間、Triton X-100 に 20 分間浸漬後、各蛍光プローブにて 5 分間インキュベーション。

<検出条件>

- ・ Nucleolus Bright Green
 Ex. 488 nm / Em. 500-600 nm
- ・ Nucleolus Bright Red
 Ex. 561 nm / Em. 565-650 nm
- ・ DAPI
 Ex. 405 nm / Em. 450-495 nm

老化と核小体に関する論文情報はHPへ

核小体 同仁 検索

| 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- | - | N511 |
| Nucleolus Bright Red | 60 nmol* | ¥28,000- | - | N512 |

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

SA β-gal を 老化細胞マーカーに

老化細胞検出キット
 Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

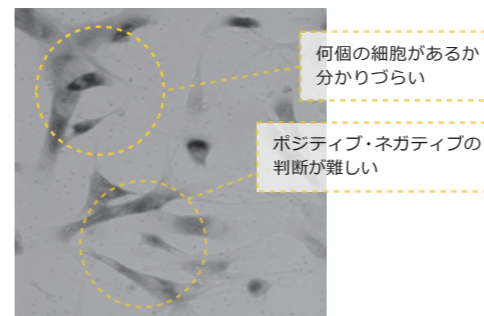
SG03 同仁 検索

老化細胞を定量できる

従来の検出法 (X-gal 法) では、比色染色した老化細胞を顕微鏡下で目視によりカウントする必要があり定量的な検出が困難でした。本キットでは、蛍光にて検出可能な β-galactosidase 基質 (SPiDER-βGal) を採用しており、フローサイトメトリーによる定量解析が可能になりました。

従来法 (X-gal 法) では

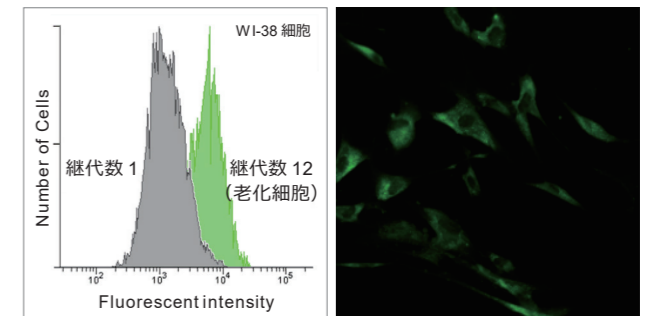
- 細胞数を顕微鏡下で目視によるカウント
- ・ 人によってポジティブ細胞の判断が異なる
- ・ 実験毎のデータがバラつく



X-gal 法による染色像

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

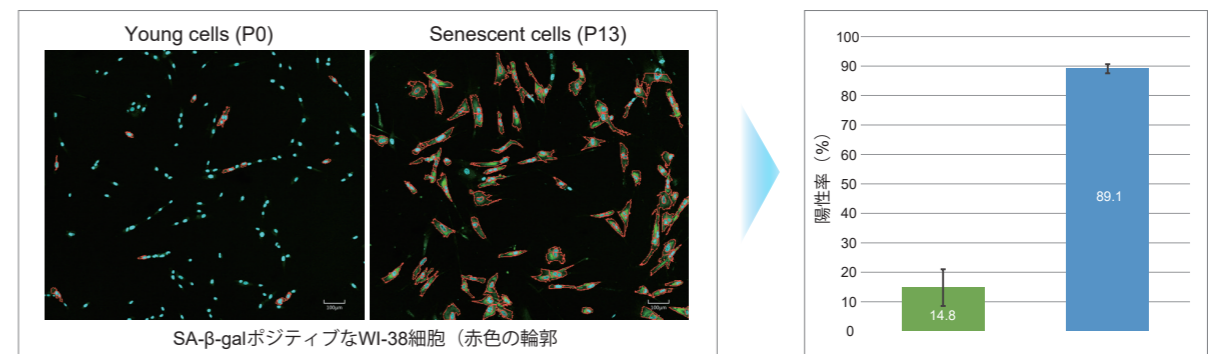


本キットによる検出結果

共焦点定量イメージサイトメーターによる定量解析

生細胞蛍光染色による解析

共焦点定量イメージングサイトメーター (横河電機株式会社 CQ1) を用いて、核染色試薬 (Hoechst 33342) で全細胞数を計測し、SPiDER-βGal で SA-β-gal を指標とした老化細胞数を計測した後、全細胞数に対する老化細胞数の割合を陽性率として定量解析を行いました。



試薬添加だけの簡単操作

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。

| 品名 | 容量 | 希望納入価格 | コード | メーカーコード |
|---|---|---------|-----------|---------|
| Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal | 10 assays* <small>*35 mm dish を用いた際の assay 数</small> | ¥38,000 | 347-09181 | SG03 |