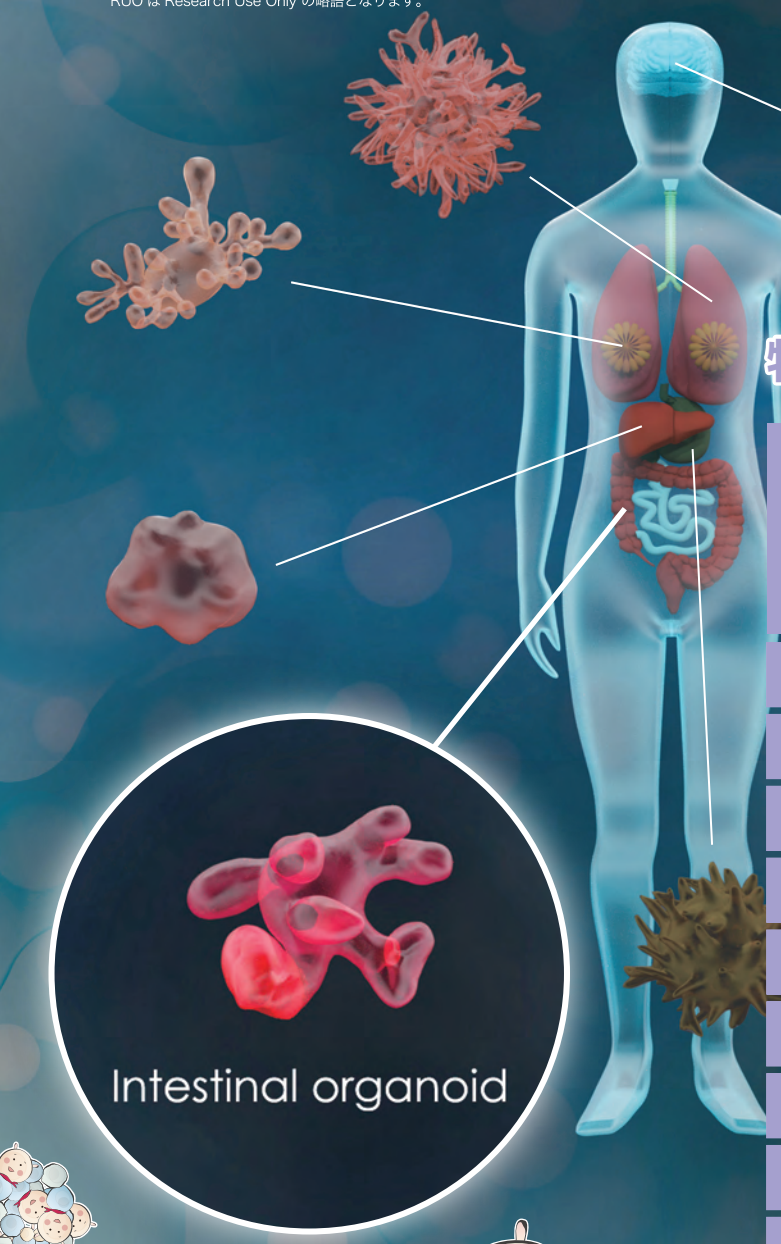
MBL RUO TOPICS

MBL
A JSR Life Sciences Company

研究用

vol.40
June. 2019

* RUO は Research Use Only の略語となります。



特集 3次元培養をはじめよう

Special Talk
Wnt3aはオルガノイド培養に必須の成分か?
Mohammed Mamunur Rahman, Ph.D.
Business Development and Tech Support Manager
MBL International Corporation
p.2

Afamin/Wnt3a CM NEW サンプル提供可能
消化管オルガノイドの培養成功のために
p.4

3次元培養用プレート サンプル提供可能
NanoCulture Plate/Dish
p.5

タグ抗体 サンプル提供可能
充実のラインナップ!!
p.6

タグ融合タンパク質の免疫沈降用ビーズ
Smart-IP タグ抗体結合磁気ビーズ・磁気アガロース
p.7

タグ融合タンパク質精製キット
活性を保持して簡単精製
p.8

蛍光タンパク質ベクター
CoralHue™ Basic fluorescent protein
p.9

細胞周期の時空間的パターンイメージング
Fucci:細胞周期の"リアルタイム"な観察に
p.9

マイトファジー活性モニタリング用ベクター
pMitophagy Keima-Red mPark2
p.10

細胞内低酸素センシングプローブ
スフェロイド内部などの状態確認に
p.12

TOPICS

骨代謝マーカー測定キット
IDS 社 ELISA キット
PINP, CTX-I, TRACP 5b, CTX-II
p.11

ビタミンD測定キット
IDS 社 ELISA キット
p.11

Wnt3aはオルガノイド培養に必須の成分か？

Mohammed Mamunur Rahman, Ph.D.

Business Development and Tech Support Manager
MBL International Corporation

オルガノイド培養とは、生体由来幹細胞を*in vitro*で3次元的に再構成し、その性質を保持したまま永続的に培養する技術です。様々な組織や臓器を培養できることが明らかとなっており、現在では多くの研究者により、脳、腎臓、肺、腸、胃、肝臓などのオルガノイド培養が行われています。

2009年Satoらは、Lgr5陽性幹細胞から上皮組織オルガノイドが構築できることを報告しました[1)]。オルガノイド培養を維持するためには、幹細胞微小環境（Niche）の維持が重要です。Niche環境で生体由来幹細胞を培養することにより、まず嚢胞状のスフェロイドを形成し、その後生体内の腸陰窩（Crypt）-絨毛（villus）構造を模したミニ腸といえるクリプト様のBuddingを形成します。またオルガノイド培養において増殖する幹細胞は、LGR5などの幹細胞マーカーを発現することを特徴としています[2)]。Wnt3a含有培地の利用もしくは非分解性βCatenin発現変異株を用いて、Wntシグナルの細胞内エフェクター分子であるβCateninを安定化することによって、*in vitro*におけるオルガノイド培養を維持できることが示されています[3) 4) 5)]。

Wntシグナルは初期発生、組織の維持[6)]、幹細胞再生[7)]、癌の形成[8)]に重要な役割を果たしていることが知られています。Wnt3aは、小腸、大腸、胃、膵臓、肝臓など様々なオルガノイドにおけるLgr5陽性細胞の増殖維持に不可欠なNiche因子であることが明らかとなっています。Wnt3aタンパク質は消化管オルガノイドの培養に使用されますが、脂溶性の高い脂質修飾を受けていることから、無血清培地中で凝集体を形成し、十分な活性を発揮することができません。一方、血清の存在下では、培養細胞から活性を持つWntが分泌されることが示されています[9)]。しかし、Wntを含む培地は常に10%以下の血清を含むことになり、血清の存在がオルガノイドの良好な培養やバイオアッセイ等の障害になっています。

AfaminによるWnt3a安定化のメカニズム

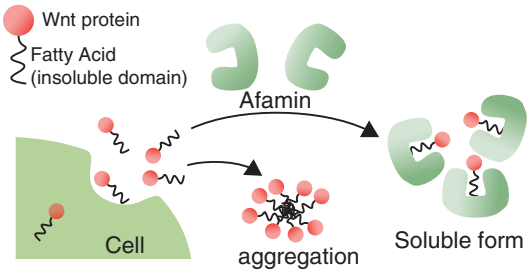
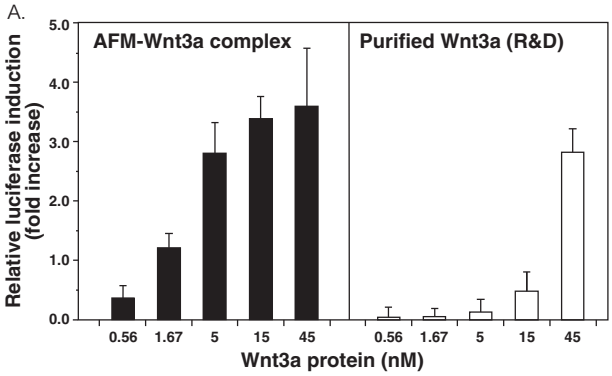


図1. AfaminによるWntタンパク質安定化の概念図



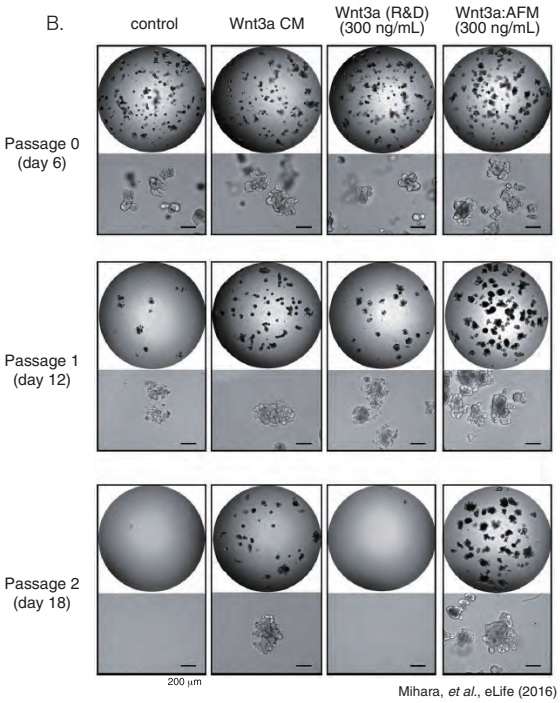
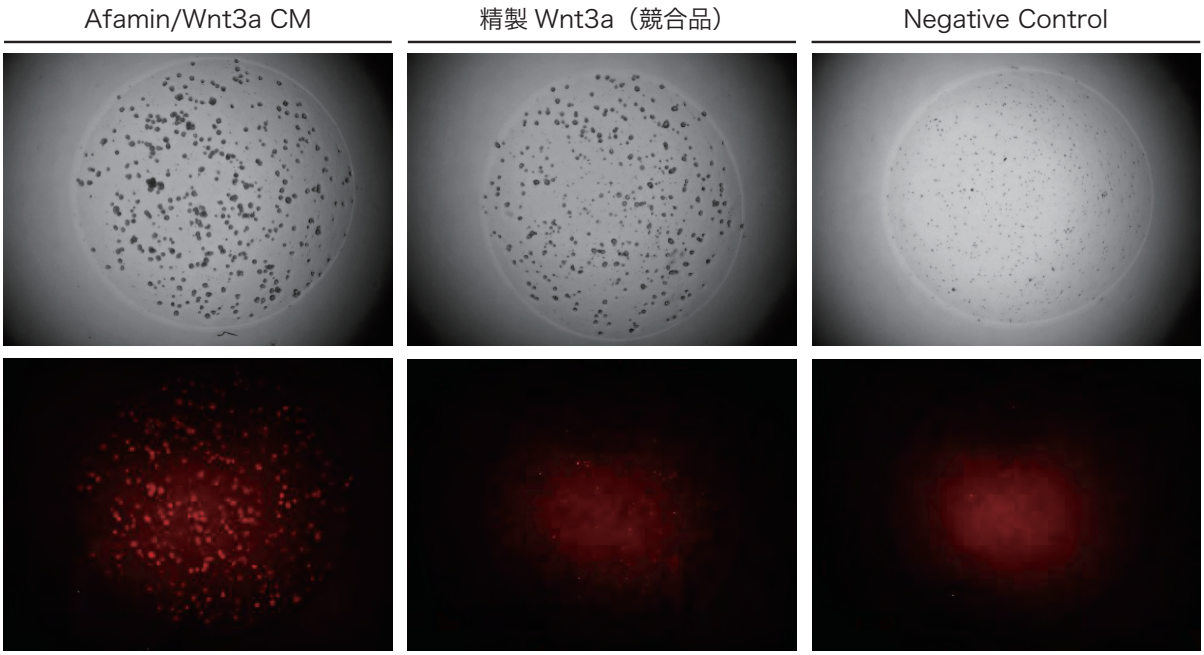


図2. Afamin/Wnt3a複合体の生理活性

2016年、Mihara, SatoらはAfaminタンパク質がWnt3aタンパク質と複合体を形成することにより、高いWnt3a活性を発揮することを見出しました。彼らは、Afamin/Wnt3a複合体が、界面活性剤を含む溶液中で高い溶解性をもち、細胞表面のFrizzledレセプターを介してWntシグナルを活性化していることを明らかにしました。加えてオルガノイド培養にAfamin/Wnt3a複合体を用いることにより、精製Wnt3aや血清を含むWnt3a培地よりも、複数回の継代と長期間のオルガノイド培養が可能となることを示しました（図2A.B）[10]。MBLはこの培地をオルガノイド培養研究者の助けになるようAfamin/Wnt3a CMとして販売を開始しました。この新しい培地はあなたのオルガノイド培養を成功に導きます。

Afamin/Wnt3a CMによるLGR5陽性細胞の維持培養



出典：慶應義塾大学医学部坂口光洋記念講座（オルガノイド医学）佐藤俊朗教授との共同研究成果より

写真上部はヒト大腸オルガノイドの明視野像、下部はLgr5プロモーター制御下にtdTomatoを発現し、LGR5陽性細胞を蛍光で検出可能なオルガノイドを用いた蛍光像になります。販売されている精製Wnt3aを用いてオルガノイド培養を行った場合に、明視野像ではオルガノイドが生育していることが観察されますが、LGR5陽性幹細胞はほとんど存在しません。一方でAfamin/Wnt3a CMを用いた場合には、LGR5陽性細胞の高い発現を確認することができます。

●参考文献

1. Sato, *et al.* Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. Nature 459, 262-265 (2009)
2. Shyer, *et al.* Bending gradients: how the intestinal stem cell gets its home. Cell 161, 569-580 (2015)
3. Clevers, *et al.* Wnt/beta-catenin signaling and disease. Cell 149, 1192-1205 (2012)
4. Drost, *et al.* Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. Nature 521, 43-47.(2015)
5. Sato, *et al.* Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. Nature 469, 415-418 (2011b)
6. Logan, *et al.* The Wnt signaling pathway in development and disease. Annual Review of Cell and Developmental Biology 20, 781-810. (2004)
7. ten Berge, *et al.* Embryonic stem cells require wnt proteins to prevent differentiation to epiblast stem cells. Nature Cell Biology 13, 1070-1075 (2011)
8. Zimmerman, *et al.* Targeting Wnt pathways in disease. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 4 (2012)
9. Willert. Isolation and application of bioactive wnt proteins. Methods Mol Biol 468, 17-29 (2008)
10. E Mihara, *et al.* Active and water-soluble form of lipidated Wnt protein is maintained by a serum glycoprotein afamin/α-albumin. eLife 5 (2016)

製品情報は次のページを見てね！

新発売

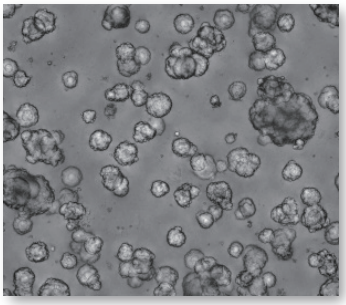
サンプルあります

JSR Life Sciences

消化管オルガノイド培養を簡単に実現する新商品が誕生！

Afamin/Wnt3a CM

- 安定したWnt3a活性
- 無血清培地によるオルガノイド培養が可能
- オルガノイドの長期培養の実現



Wnt3a試薬の比較

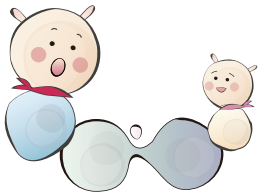
	Afamin/Wnt3a CM（本製品）	精製 Wnt3a	研究室で調製した Wnt3a Conditioned Medium
Wnt3a活性	Afaminによって安定化された **高いWnt3a活性**	培養液中で凝集体を形成するため **不十分なWnt3a活性**	血清で安定化された **高いWnt3a活性**
品質評価	**Wnt3aシグナル活性評価**	**多くは タンパク質定量のみ** Wnt3a活性にLot間差がある場合もある	各研究室で調製されており、**発現量・活性ともに未確認**
血清の有無	**無血清**	**無血清**	**血清入り** 血清由来成分がオルガノイド培養に影響を与える恐れあり

Afamin/Wnt3a CM 製品仕様

Afamin/Wnt3a CMはAfaminとWnt3aタンパク質を無血清培地中に共発現させたConditioned Mediumであり、無血清培地中で高いWnt3a活性が期待できます。

Code No.	製品名	主要成分	溶媒	包装	価格(税別)
J-ORMW301R	Afamin/Wnt3a CM	Mouse Wnt3a Human Afamin	Advanced D-MEM/F-12	10 mL	¥50,000

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1099】



オルガノイドは、発生や疾患・老化モデルや薬剤評価モデルなどへの応用も考えられているようだね。

サンプルあります

ORGANOGENIX

３次元培養用プレート

NanoCulture Plate/Dish *for 3D cell culture*

NanoCulture Plate (NCP) および Dish (NCD) は簡便な操作で、*in vivo* における細胞の性質を反映したスフェロイドを得ることができる３次元培養用のカルチャーウェアです。

特徴

- **簡便な操作性**

マトリックスフリーなので簡便な操作性です。
透明な底面に細胞が接着するために、高い観察性を有します。

- **高い細胞生存率**

遊走する生細胞のみスフェロイド形成に関与するので、高い細胞生存率です。

- **均一な製造ロット**

生物由来成分を含まない化成品のため、ロット間差がほとんどありません。

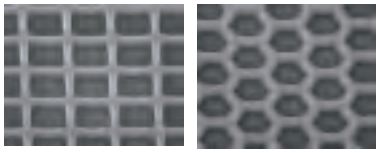
- **早いスフェロイド形成**

播種3日目には顕微鏡観察にてスフェロイドが観察できます。

NCP/NCDの技術とスフェロイド形成

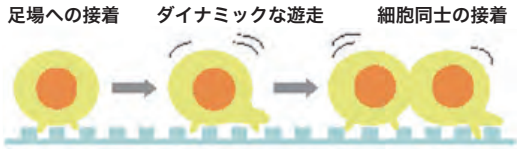
NCPは、底面に細胞外マトリックスを模倣した微細構造をインプリントしたbio-mimic製品です。
この微細構造は細胞のプレートへの接着を抑えつつ、足場として機能し、細胞の遊走を促進させます。
細胞はこの微細構造上を遊走しながらお互いに接着していくことで、短期間でスフェロイドを形成していきます。

■底面の微細構造



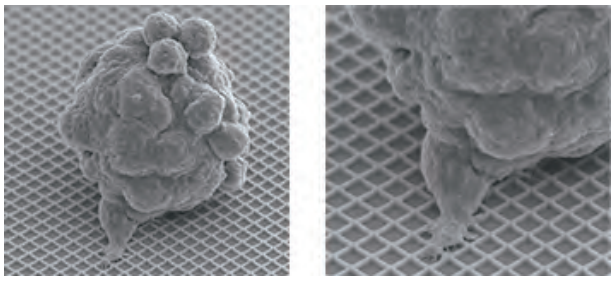
左：マイクロスクエア(MS)
右：マイクロハニカム(MH)

■NCP/NCD上のスフェロイド形成の模式図



■HeLa細胞のスフェロイド

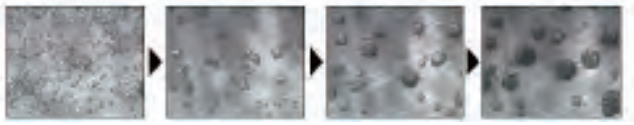
播種3日目には数十～数百細胞からなるスフェロイドが形成される。



データご提供：早稲田大学 教授 並木秀男先生

■スフェロイド形成の様子

継続的に観察することで細胞およびそのスフェロイドが融合していく様子がわかります。



100μm

製品リスト

NanoCulture Plate (NCP), Ver.2

プレートタイプ			Code No.	包装	価格(税別)
Well数	ボトムパターン	細胞接着性			
96-well	MH Pattern	Low-Binding	NG-PLH9002	2 plates	¥24,000
			NG-PLH9010	10 plates	¥98,000
24-well	MH Pattern	Low-Binding	NG-PLH2002	2 plates	¥24,000
			NG-PLH2010	10 plates	¥98,000

NanoCulture Dish (NCD)

ディシュタイプ			Code No.	包装	価格(税別)
直径	ボトムパターン	細胞接着性			
35 mm	MH Pattern	Low-Binding	NC-DLHD005	5 dishes	¥12,000
		High-Binding	NC-DHHD005	5 dishes	¥12,000
	MS Pattern	Low-Binding	NC-DLSD005	5 dishes	¥12,000
		High-Binding	NC-DHSD005	5 dishes	¥12,000

売れています！　エピトープタグ

充実のラインナップ！！抗体単品から精製キットまで

タグ抗体

MBLでは未標識抗体、標識抗体から精製キットまで幅広いラインナップが自慢です。DDDDK、HA、Myc、His、V5タグなど頻繁に利用されるタグに対する抗体に加え、GFPやRFPなどの蛍光タンパク質に対する抗体タンパク質発現制御システムAID法のAID（Auxin-Inducible Degron）タグ、Digoxigenin（DIG）、FITCに対する抗体もございます。

タグ関連製品は全品サンプルをお試しいただけます。
サンプル申し込み書はWebからどうぞ！

サンプル依頼書
Web ページ ID【1100】

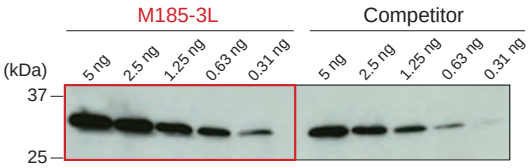
製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1094】

主なタグ抗体ラインナップ

標識 / ターゲット	未標識	ビオチン	HRP	Alexa Fluor®	アガロース	磁気ビーズ	磁気アガロース	精製キット	
			DirecT シリーズ			*Smart-IP* シリーズ	*Smart-IP* シリーズ	アガロース	磁気ビーズ
DDDDK	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
HA	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
His	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Myc	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
V5	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓
GFP	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
RFP	✓		✓		✓	✓	✓		

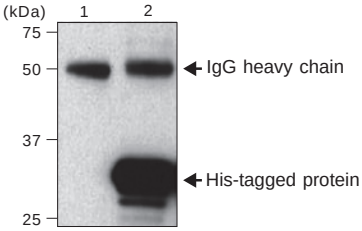
この他にも各種タグに対する抗体を取り揃えております。
E-tag, S-tag, T7-tag, GST, MBP, Renilla GFP, Luciferase, Renilla Luciferase, Digoxigenin(DIG), FITC　など

■ Western blotting (Code No. M185-3)



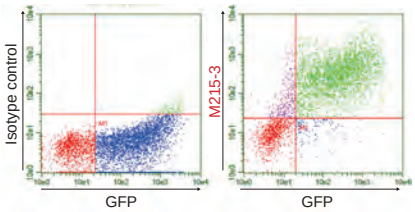
Sample: Internal DDDDK-tagged GFP

■ Immunoprecipitation (Code No. D291-3)



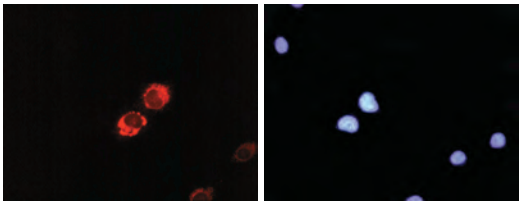
Lane 1: IP with Isotype control (M076-3)
Lane 2: IP with Anti-His-tag mAb (D291-3)
Immunoblotted with D291-3

■ Flow cytometry (Code No. M215-3)



Cells: V5-tag GFP/HEK293T
Left: Isotype control (M077-3)
Right: M215-3

■ Immunocytochemistry (Code No. 562)

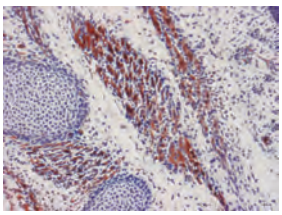


Anti-Myc-tag pAb (562)　　Hoechst

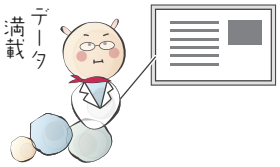
Myc-tagged Bcl2 transfected into BHK

Photos were provided by Dr. Futoshi Shibasaki, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

■ Immunohistochemistry (Code No. 598)



GFP Mouse paraffin-embedded section stained with Anti-GFP pAb (598)



☆人気Top 5☆　抗体製品

Code No.	製品名	クローン	アイソタイプ	包装	使用法	価格（税別）
M185-3L	Anti-DDDDK-tag mAb	FLA-1	Mouse IgG2aκ	1 mg/1 mL	WB, IP, FCM, IC, ChIP*, Co-IP*	¥47,000
D291-3	Anti-His-tag mAb	OGHis	Mouse IgG2aκ	200 μg/200 μL	WB, IP, FCM, IC	¥48,000
M215-3	Anti-V5-tag mAb	OZA3	Mouse IgG2bκ	100 μg/100 μL	WB, IP, FCM, IC	¥48,000
562	Anti-Myc-tag pAb	Polyclonal	Rabbit IgG	100 μL	WB, IP, IC, IH*, ELISA*, ChIP*	¥28,000
598	Anti-GFP (Green Fluorescent Protein) pAb	Polyclonal	Rabbit IgG	100 μL	WB, IP, IH, IC, ChIP*, Immuno-EM*	¥48,000

使用法：WB: Western Blotting, IH: Immunohistochemistry, IC: Immunocytochemistry, IP: Immunoprecipitation, IF: Immunofluorescence, FCM: Flow Cytometry, RIP: RNP Immunoprecipitation, ChIP: Chromatin Immunoprecipitation, Co-IP: Co-Immunoprecipitation
*: 論文で報告されております。

売れています！　エピトープタグ

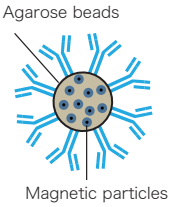
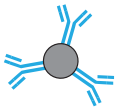
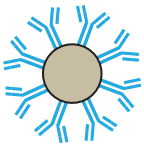
タグ融合タンパク質の免疫沈降に

Smart-IP タグ抗体結合磁気ビーズ・磁気アガロース

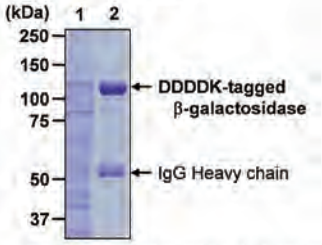
特徴

- 迅速
- 遠心操作不要
- 洗浄中のうっかり吸い込みがなく、ロスが少ない

ラックは別売りです (Code No. 3190)

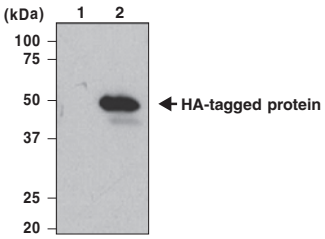
ビーズ種類	使用法	ビーズ径	ビーズ模式図	製品写真	特徴	こんな方におススメ
磁気アガロース	IP	約50 μm			・担体量あたりのIgG結合量が多い ・磁気で固定できるためサンプルロスが少ない ・ゲルが見やすい ・磁気ラックが必要	★ 収量を重視されたい方 ★ 操作を簡便にしたい方
磁気ビーズ	IP 精製	約1.5 μm			・担体量あたりのIgG結合量がやや少ない ・磁気で固定できるためサンプルロスがほとんどない ・分散しやすく、スクリーニング等に有用 ・ビーズが見やすい ・磁気ラックが必要	★ Elution volumeを小さくしたい方 ★ 操作を簡便にしたい方
アガロース	IP 精製	約100 μm			・担体量あたりのIgG結合量が多い ・ゲル洗浄の際、サンプルロスが生じる ・ゲルが見にくい ・磁気ラックが不要	★ 収量を重視されたい方 ★ コストを抑えたい方

■ Anti-DDDDK-tag mAb (Code No. M185-11)



Sample: DDDDK-tagged β-galactosidase/293T
Lane 1: Input (5 μL/lane)
Lane 2: Post-IP beads of Anti-DDDDK-tag mAb (M185-11)

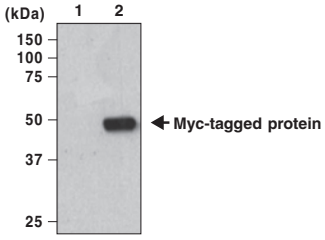
■ Anti-HA-tag mAb (Code No. M180-10)



Lane 1: 293T
Lane 2: HA-tagged protein expressed in 293T

Immunoblotted with Code No. M180-7

■ Anti-Myc-tag mAb (Code No. M047-10)



Lane 1: 293T
Lane 2: Myc-tagged protein expressed in 293T

Immunoblotted with Code No. M192-7

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1064】

売れています！　エピトープタグ

活性を保持して簡単精製！

タグ融合タンパク質精製キット

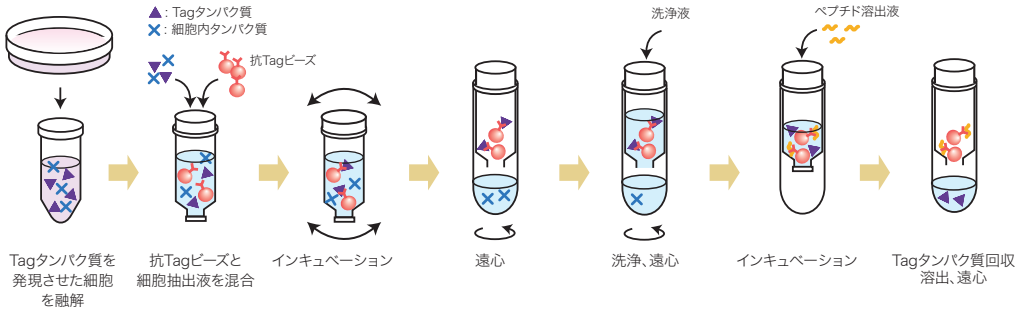
MBL のタグ融合タンパク質精製キットには、それぞれのタグに対して特異性が高く、ペプチド溶出をするうえで最適な親和性を持った抗体を結合させたアガロースビーズ、あるいは、磁気ビーズが含まれています。哺乳動物細胞などで発現させたタグ融合タンパク質をマイルドな中性条件下で簡便かつ高純度に精製することが可能です。

特徴

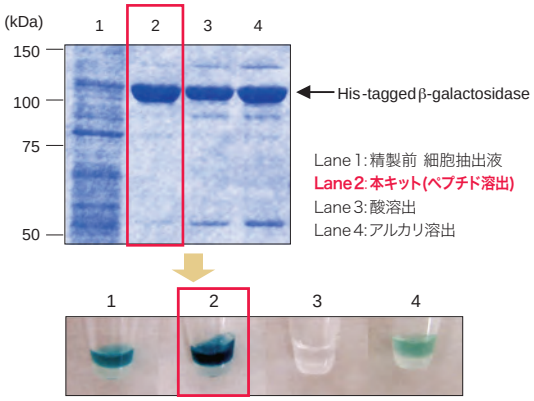
- 中性条件で精製するから活性や構造を保持
- 少量サンプルからの精製に
- 必要な試薬がオールインワン

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1101】

測定原理（アガロースビーズ利用）

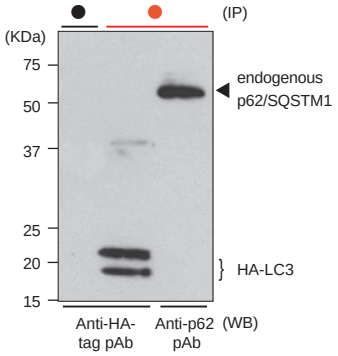


■ 精製タンパク質の活性の確認
His tagged Protein PURIFICATION KIT (Code No. 3310)



各フラクションのX-gal呈色反応

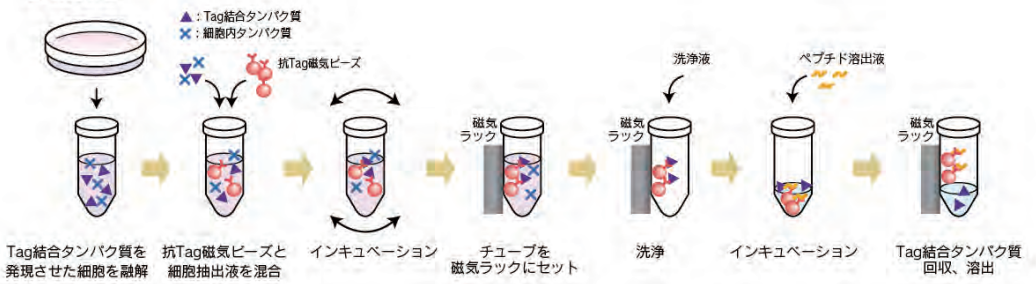
■ プルダウンアッセイ
HA tagged Protein PURIFICATION KIT (Code No. 3320)



Sample：293T/HA-tagged LC3
IP：●：Isotype control–Agarose
●：HA-tagged Protein PURIFICATION KIT–Agarose
溶出：HA-tag ペプチド 4°C、5分
WB：Anti-HA-tag pAb (561)
Anti-p62 (SQSTM1) pAb (PM045)

LC3-HAタンパク質に結合している内在性p62タンパク質をプルダウンできました。

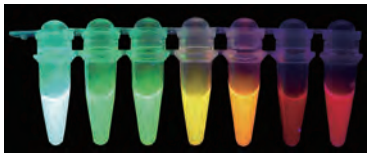
測定原理（磁気ビーズ利用）



Code No.	製品名	包装	価格(税別)
3305	c-Myc tagged Protein MILD PURIFICATION KIT Ver.2	20 tests	¥75,000
3310	His tagged Protein PURIFICATION KIT	20 tests	¥75,000
3317	V5-tagged Protein Purification Kit Ver.2	20 tests	¥75,000
3320	HA tagged Protein PURIFICATION KIT	20 tests	¥75,000
3325	DDDDK tagged Protein PURIFICATION KIT	20 tests	¥65,000

Code No.	製品名	包装	価格(税別)
3340	c-Myc-tagged Protein Magnetic Purification Kit	1 kit	¥75,000
3341	V5-tagged Protein Magnetic Purification Kit	1 kit	¥75,000
3342	HA-tagged Protein Magnetic Purification Kit	1 kit	¥75,000
3343	DDDDK-tagged Protein Magnetic Purification Kit	1 kit	¥65,000

売れています！　蛍光タンパク質 >> ベクター



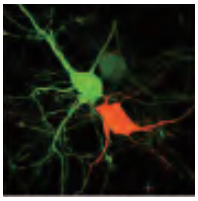
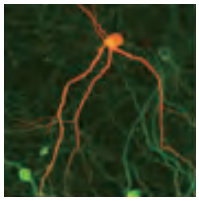
多彩な蛍光タンパク質で広がる解析の可能性！！

CoralHue™ Basic fluorescent proteins

特徴

- 豊富なカラーバリエーション
- ユニークな性質いろいろ（Photo-conversion、Large stokes shift 等）
- 低価格（¥28,000（税別））

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1102】

蛍光タンパク質	色	励起/蛍光 最大波長 (nm)	オリゴマー	明るさ※
KCy1: Kusabira-Cyan	Cyan	453/486	Dimer	16.9
MiCy1: Midoriishi-Cyan1	Cyan	472/495	Dimer	24.5
mMiCy1: monomeric Midoriishi-Cyan1	Cyan	470/496	Monomer	15.5
mUkG1: monomeric Umikinoko-Green1	Green	483/499	Monomer	43.2
AG: Azami-Green	Green	492/505	Tetramer	48.4
mAG1: monomeric Azami-Green1	Green	492/505	Monomer	40.7
KO1: Kusabira-Orange1	Orange	548/561	Dimer	33.2
mKO1: monomeric Kusabira-Orange1	Orange	548/559	Monomer	31.0
mKO2: monomeric Kusabira-Orange2	Orange	551/565	Monomer	39.6
dKeima570	Orange	440/570	Dimer	2.1
dKeima-Red	Red	440/616	Dimer	7.6
mKeima-Red: monomeric Keima-Red	Red	440/620	Monomer	3.5

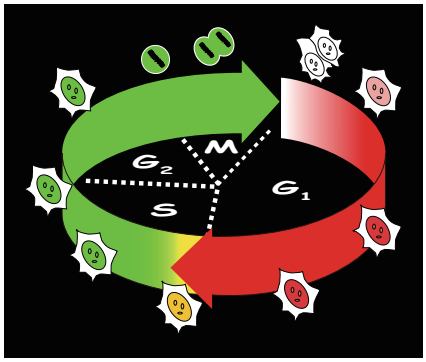
※明るさ：モル吸光係数×量子収率 / 1000

細胞周期の“リアルタイム”な観察に

Fucci（Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator）

特徴

- 細胞の増殖や分化、挙動の空間的なパターンイメージングが可能
- S/G_2/M 期は緑色、G_1期はオレンジ色でリアルタイムに観察
- 純国産蛍光タンパク質を利用（緑色：mAzami-Green 1（mAG1）と オレンジ色：mKusabira-Orange 2（mKO2））



Code No.	製品名	包装	価格（税別）
AM-V9001M	pFucci-G_1Orange (Cloning vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9003M	pFucci-G_1Orange (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9010M	pFucci-S/G_2/M Green-Hyg (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9014M	pFucci-S/G_2/M Green (Cloning vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9016M	pFucci-S/G_2/M Green (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9030M	pFucci-S/G_2/M Green (N+C)-Hyg (Expression vector)	20 μg	¥59,000
AM-V9034M	pFucci-S/G_2/M Green (N+C) (Cloning vector)	20 μg	¥59,000

※ 緑とオレンジのセット品（Fucci vector set）も各種¥98,000（税別）でご用意がございます。

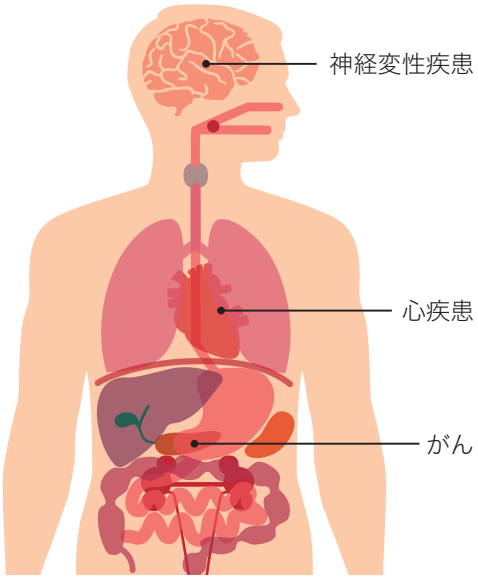
※ *CoralHue*™ 蛍光タンパク質は独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター 細胞機能探索技術開発チーム（宮脇敦史チームリーダー）との共同研究で開発されたものであり、MBLが実施権を有し販売しております。
注）記載されている価格は、非営利団体のお客様向けです。営利団体に所属されるお客様につきましては、別途契約が必要です。

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1066】

注目！　蛍光タンパク質 >> ベクター

マイトファジー活性モニタリング用ベクター

pMitophagy Keima-Red mPark2



特徴

- **単一のコンストラクトで簡単導入**
- **Ratio Score で定量解析可能**
- **ハイスループットスクリーニング（HTS）にも**

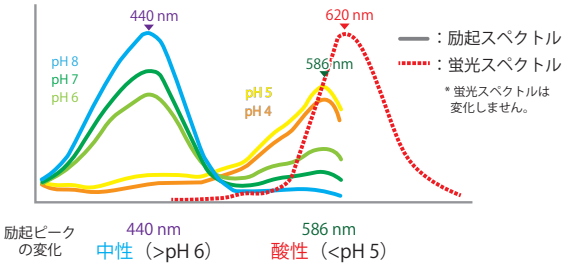
マイトファジー：ミトコンドリア選択的オートファジーは、神経変性疾患、がん、心疾患など多くの疾患との関わりが報告されており、基礎研究から創薬開発まで幅広く研究が進んでいます。理化学研究所と当社で共同開発した蛍光タンパク質 Keima-Red の励起スペクトルが pH に応じて変化する性質を利用し、それぞれの励起による蛍光の強度比（Ratio）でマイトファジー活性のモニタリングが可能となりました。

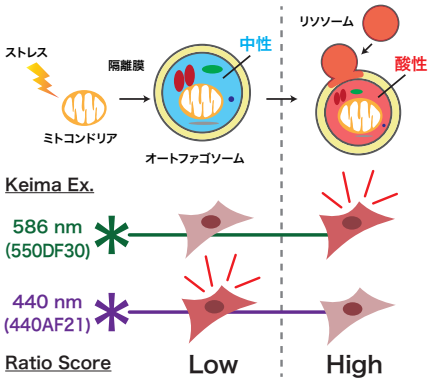
ミトコンドリア局在mKeima-Red（MT-mKeima-Red）とParkin（Park2）がIRES制御下で単一のコンストラクトからバイシストロニックに発現します。

マイトファジー活性モニタリング原理と解析方法

蛍光タンパク質Kiema-Redは、励起スペクトルがpH により変化します。中性環境下では短波長側（440 nm）優勢ですが、酸性環境下では長波長側（586 nm）優勢です。この2つの励起波長による画像データから得られるRatio（586 nm/440 nm）画像で観察すると、中性環境下のKeimaは、Ratio値は低くなり、青色で表示されます。一方、酸性環境下にあるKeimaでは、Ratio値は高くなり、赤色で表示されます。

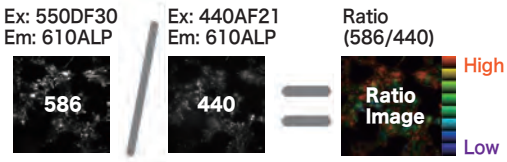
モニタリング原理



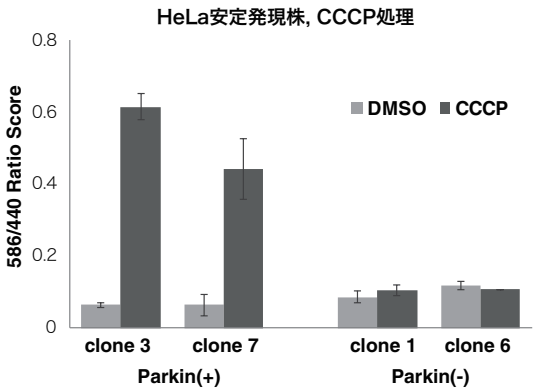


解析方法

◎イメージング



◎定量解析



■ 安定発現株 (HeLa 細胞)
Parkin(+): MT-mKeima-Red-IRES-Park2 を導入
Parkin(-): MT-mKeima-Red を導入

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
AM-V0259M	pMitophagy Keima-Red mPark2 (Kan)	20 μg	¥59,000
AM-V0259HM	pMitophagy Keima-Red mPark2 (Hyg)	20 μg	¥59,000
AM-V0251M	*CoralHue*™ Mitochondria-targeted mKeima-Red (pMT-mKeima-Red)	20 μg	¥28,000
AM-V0251HM	*CoralHue*™ Mitochondria-targeted monomeric Keima-Red (Hyg)	20 μg	¥28,000

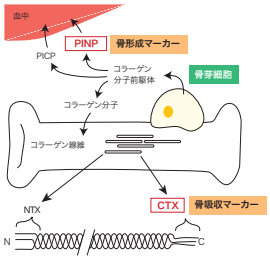
※AM-V0251M、AM-V0251HMはミトコンドリア局在mKeima-Red（pMT-mKeima-Red）のみの発現で、mPark2の共発現はありません。（AM-V0251Mはkanamycin、AM-V0251HMはhygromycin選択ベクターです。

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【921】

これらのキットは研究用試薬です。

IDS 社　ELISA キット

骨代謝マーカー測定キット



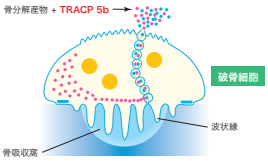
■ PINP　I型プロコラーゲン -N- プロペプチド

骨形成において重要なステップは骨基質の主要な有機的構成成分であるI型コラーゲンの合成です。コラーゲン合成の間、コラーゲン分子前駆体の N 末端、C 末端の両方からペプチド前駆体は切断され血液中に放出されます。ヒトのI型コラーゲン N 末端前駆体（PINP）は骨形成の最も特異的で感度の高いマーカーです。PINP は、特に骨粗鬆症治療効果をモニターするマーカーとして使用されていますが、骨吸収抑制治療効果をモニターするための最も良いマーカーの一つでもあります。

■ CTX-I　I型コラーゲン -C- テロペプチド

骨形成される一方で、破骨細胞による骨吸収過程でI型コラーゲン繊維は、I型コラーゲン架橋 N 端テロペプチド（NTX）、I型コラーゲン架橋 C 端テロペプチド（CTX-I）およびI型コラーゲン C 端テロペプチド（I CTP）に分解されます。これらは骨吸収マーカーとして汎用されています。CTX-Iは、特に骨粗鬆症の診断治療効果の判定に用いられています。

■ TRACP 5b　酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ



酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ（TRACP）は骨吸収を行う破骨細胞と活性化したマクロファージによって大量に発現されます。血中のTRACP には TRACP 5aとTRACP 5b の 2 つのフォームが存在し、TRACP 5a は炎症性マクロファージ、TRACP 5b は破骨細胞に由来します。破骨細胞は活性型 TRACP 5b を分泌しますが、血中から除去される前に不活化され分解されるため、TRACP 5b 活性は腎不全や肝不全であっても蓄積されることはありません。血清 TRACP 5b の日周変動は低く、摂食の影響を受けないため、いつでも検体が採取できます。

■ CTX-II　II型コラーゲン - C-テロペプチド

II型コラーゲン架橋C端テロペプチド (CTX-II) は、関節リウマチ（RA）、変形性関節症（OA）どちらの疾患においても血液、尿中の濃度が正常値よりも高値になる事が知られており、病態との関連性も明らかになるなど注目されている分子です。
CTX-II EIA Kitは、RA及びOAの疾患モデル動物の血清、尿中のCTX-II濃度を測定できるELISA Kit です。

Code No.	製品名	サンプル	包装	交差反応性	価格(税別)
DS-AC33F1	Rat/Mouse PINP ELISA	血清、血漿 (Heparin or EDTA)、培養上清	96 wells	Mouse, Rat	¥227,000
DS-SBTR102※	RatTRAP™ Assay (TRACP 5b ELISA)	血清	96 wells	Rat	¥97,000
DS-SBTR103※	MouseTRAP™ Assay (TRACP 5b ELISA)	血清	96 wells	Mouse	¥97,000
DS-AC04F1	ALPHA CrossLaps® ELISA (CTX-Ⅰ)	尿	96 wells	Human	¥180,000
DS-AC06F1	RatLaps™ ELISA	血清、血漿、尿、培養上清	96 wells	Mouse, Rat, Guinea pig	¥115,000
DS-AC07F1	CrossLaps® for Culture ELISA (CTX-Ⅰ)	培養上清	96 wells	Human, Bovine, Chicken, Pig, Elephant	¥132,000
DS-AC12F1	Rat-MID™ Osteocalcin ELISA	血清、血漿	96 wells	Rat, Rabbit, Bovine, Chicken, Pig	¥97,000
DS-AC14F1	Corticosterone EIA	血清、血漿	96 wells	Mouse, Rat	¥97,000
DS-AC15F1	Corticosterone HS (High Sensitivity) EIA	血清、血漿	96 wells	Multi species	¥97,000
DS-AC08F1	Serum Pre-Clinical CartiLaps® ELISA (CTX-Ⅱ)	血清、血漿、軟骨片培養上清、滑液	96 wells	Mouse, Rat, Rabbit	¥138,000
DS-AC09F1	Urine Pre-Clinical CartiLaps® ELISA (CTX-Ⅱ)	尿、軟骨片培養上清	96 wells	Mouse, Rat, Rabbit, Bovine, Pig, Rhesus monkey	¥138,000

※カルタヘナ法該当品です。ご購入前に各機関における機関内承認が必要になります。

ビタミン D 測定キット

■ ビタミンDの代謝

脂溶性ステロイドプロホルモンであるビタミンDは、エルゴカルシフェロール（D_2）とコレカルシフェロール（D_3）の2つに分けられます。ビタミンD_3は、太陽の紫外線照射によって、7-デヒドロコレステロールから生合成されます。また、ビタミンDは、体内で生合成される他にも、魚介類、キノコ、ビタミンD強化食品、サプリメントなどの食品摂取によって生体内に取り込まれます。
生合成あるいは摂取されたビタミンDは脂肪組織にいったん貯蔵されますが、その後、肝臓でヒドロキシル化されて、25 (OH)ビタミンDになります。さらに腎臓においてその一部が副甲状腺ホルモンおよびイオン化カルシウム存在下でヒドロキシル化され、活性化ビタミンDである1,25 $(OH)_2$ ビタミンDに代謝されます。

■ 疾患との関わり

ビタミンDは、腸からのカルシウムおよびリンの吸収や腎臓でのカルシウムおよびリンの再吸収の促進などに重要な役割を果たし、25 (OH)ビタミンDの欠乏は、副甲状腺機能亢進症や、骨代謝障害（くる病、骨粗鬆症や骨軟化症など）の疾患と関連しています。
また、副甲状腺機能低下症や、骨代謝障害、慢性腎不全などの疾患では、1,25 $(OH)_2$ ビタミンDが低値となり、副甲状腺機能亢進症では、1,25 $(OH)_2$ ビタミンDは高値となります。

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
DS-AC57SF1	25-Hydroxy Vitamin Ds EIA	96 wells	¥97,000
DS-AC62F1	1,25-Dihydroxy Vitamin D EIA	96 wells	¥150,000

製品ピックアップ情報
Web ページ ID【1073】

注目！

ORGANOGENIX

特におすすめ がん研究者、オルガノイド研究者

細胞の低酸素状態を簡便に確認！

Hypoxia Probe: LOX-1
細胞内低酸素センシングプローブ

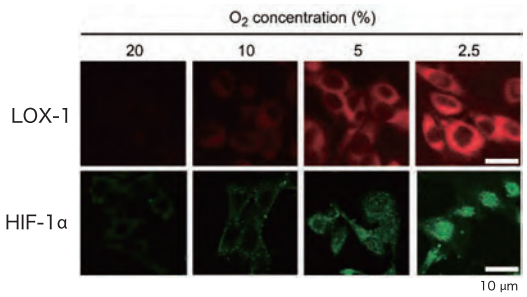
特徴

- 簡便なホモジニアスアッセイ
- 蛍光顕微鏡下で検出可能
- 低い細胞毒性

DMSOに溶解した本剤を観察の前日までに培地に添加するだけの簡単な操作です。煩雑だった従来までの手法（レポータージーンアッセイや免疫染色法など）から解放されます。

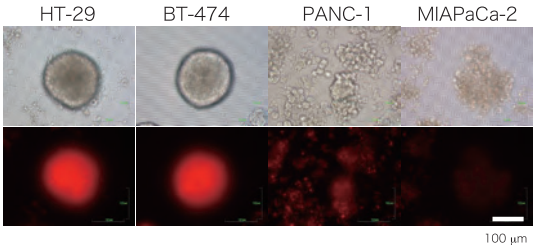
細胞内の低酸素センシング（HIF-1α発現レベルとの比較）

単層培養されたSCC-7を20～2.5%の各酸素濃度条件下で24時間培養した後、低酸素プローブLOX-1を処理しました。
HIF-1αの免疫染色のシグナルと同様に、酸素濃度の低下に伴ってLOX-1の低酸素シグナル強度が高まることが確認されます。
（Zhang *et al.*, Cancer Research 2010）



スフェロイド内部の低酸素センシング

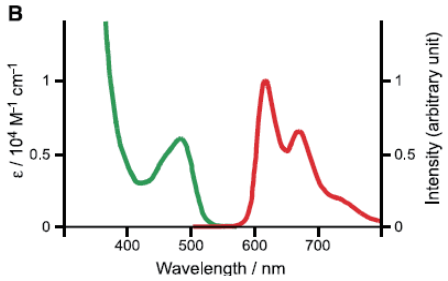
NanoCulture Plateで3次元培養した4種類の細胞に対してLOX-1を処理しました。
細胞凝集性の高いスフェロイドの内部は低酸素シグナルが強いことが確認されます（HT-29、BT474）。
一方、凝集性の低い細胞塊の内部は低酸素になりにくいことが確認されます（PANC-1、MIAPaCa-2）。



低酸素プローブLOX-1の性質

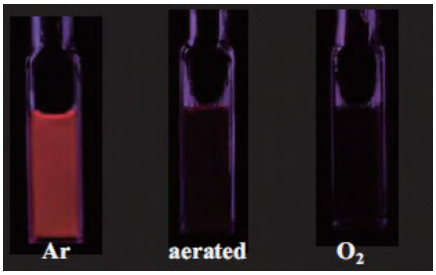
- **スペクトル特性**

吸収スペクトルを緑、りん光スペクトルを赤で示しています。
吸収とりん光はそれぞれ483 nm、616 nmで最大となります。
（Zhang *et al.*, Cancer Research 2010）



- **りん光の酸素消光**

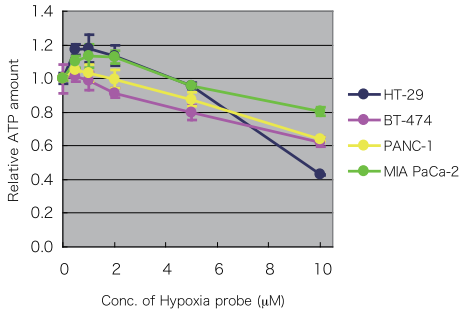
酸素雰囲気下では、低酸素プローブLOX-1は共存する酸素のクエンチング効果により、りん光が消光していますが（O_2とaerated）、アルゴン置換することにより赤色のりん光を発するようになります（Ar）。



データご提供：群馬大・飛田成史 教授

- **低い細胞毒性**

4種類の細胞懸濁液に低酸素プローブLOX-1を各種濃度で添加してNanoCulture Plateで培養しました。
培養7日後にATPアッセイによる細胞毒性の評価をした結果、低酸素プローブは、すべての細胞に対して2 μMまでは細胞障害性を示さないことが確認されました。



製品リスト

Code No.	製品名	包装	価格（税別）
NC-LOX-1S	Hypoxia Probe Solution (LOX-1)	100 μL	¥10,000

製品ピックアップページ
Web ページ ID【1006】

Copyright © 2019 MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD. All Rights Reserved.

2019.06 151071-19101000

MBL 株式会社 医学生物学研究所
A JSR Life Sciences Company https://ruo.mbl.co.jp/
◎ LSTR事業部
〒105-0012
東京都港区芝大門2丁目11番8号 住友不動産 芝大門二丁目ビル
TEL：03-6854-3614 E-mail：support@mbl.co.jp