

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 **新製品**

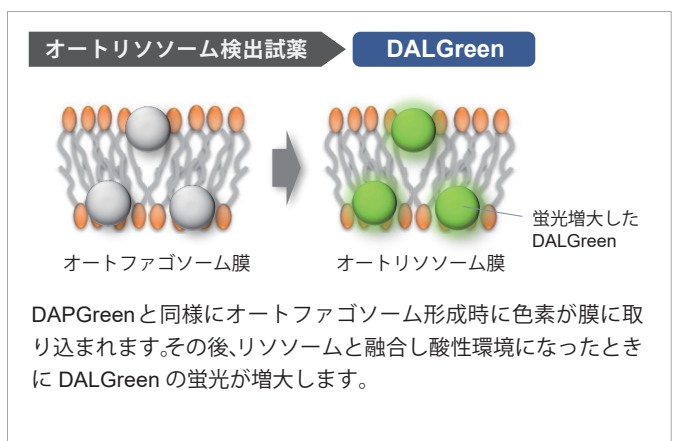
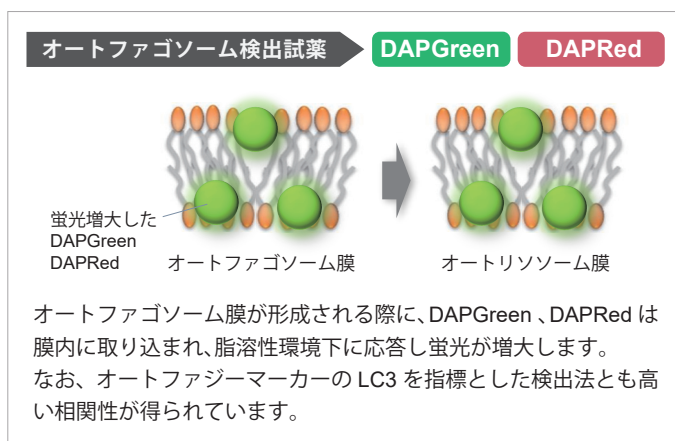
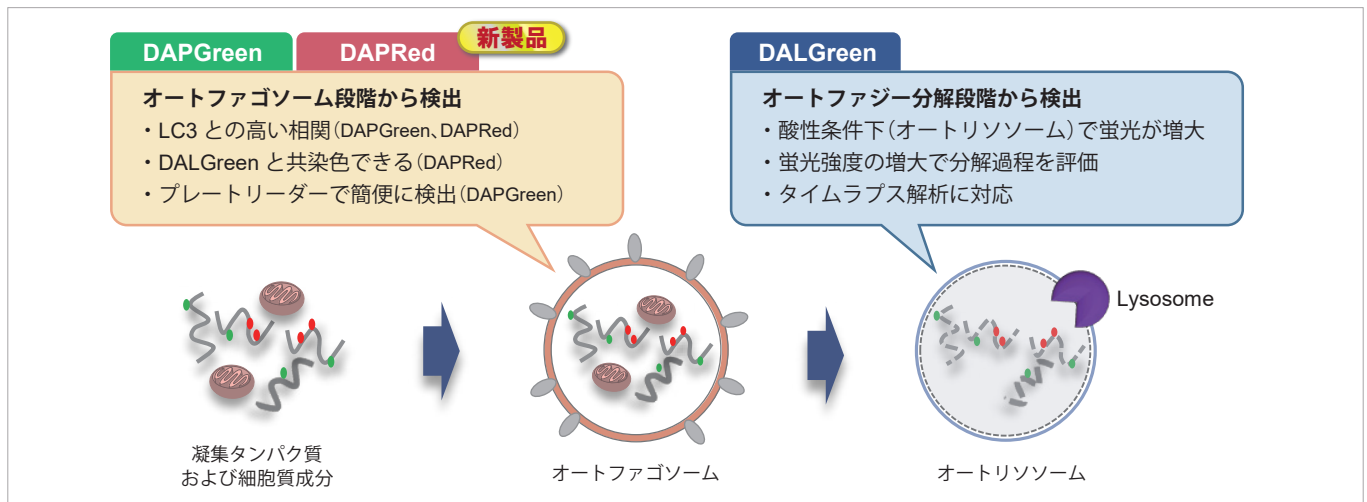
3月22日発売!

オートリソソーム 検出蛍光試薬

DALGreen - Autophagy Detection

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。



さらに理解を深める

論文情報

DAPGreen および DALGreen の詳細な測定原理や実験例を掲載しています。(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.

「論文情報」、「よくあるお問合せ」は随時更新中!

オートファジー 同仁

検索

NEXT

3つの製品概要と検出例

オートファジー検出蛍光試薬

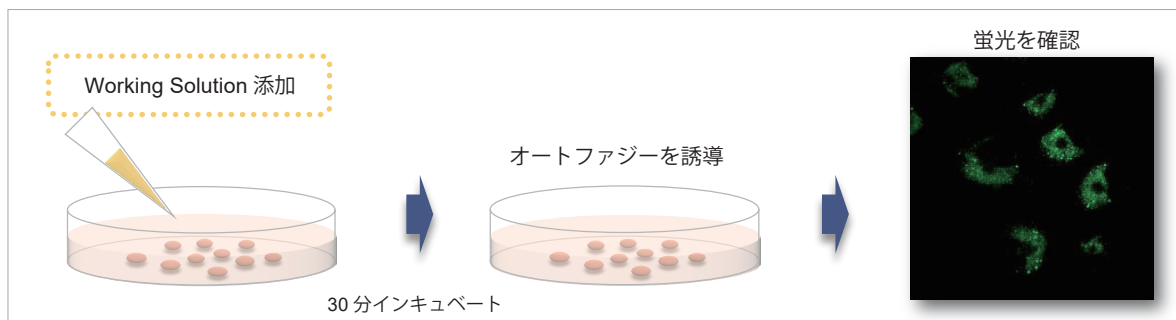
検出試薬の概要

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

操作は試薬の添加だけ

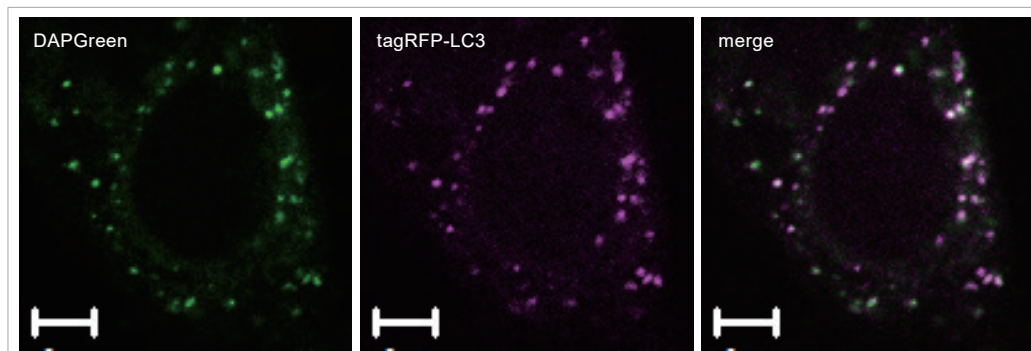
遺伝子導入は不要です。準備した細胞に試薬を添加するだけの簡単操作で蛍光イメージングを実現します。



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。

検出条件

DAPGreen : Ex. 488 nm / Em. 500-563 nm
スケールバー : 10 μm

オートファジー誘導条件

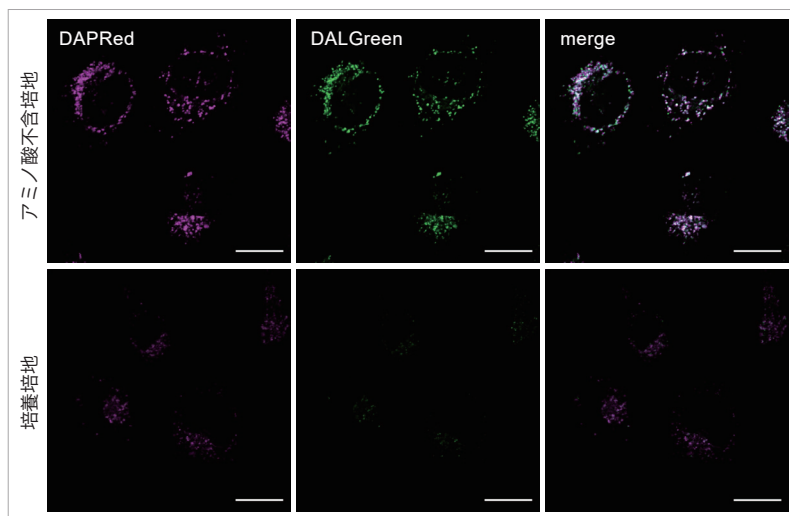
RFP-LC3 発現 HeLa 細胞に DAPGreen 添加後、Rapamycin によりオートファジーを誘導しました。誘導から 4 時間後に、DAPGreen 及び RFP の蛍光像を共焦点顕微鏡にて確認しました。

DAPRed と DALGreen の共染色

DAPRed

DALGreen

オートファゴソーム染色試薬 DAPRed とオートリソソーム染色試薬 DALGreen により、HeLa 細胞を染色後、飢餓培養によるオートファジーの誘導を確認しました。



結果

アミノ酸不含培地で培養した HeLa 細胞において、DAPRed と DALGreen の蛍光の増大が確認されました。

検出条件

DAPRed : Ex. 561 nm / Em. 600-700 nm
 DALGreen : Ex. 488 nm / Em. 500-563 nm
 スケールバー : 20 μm

オートファジー誘導条件

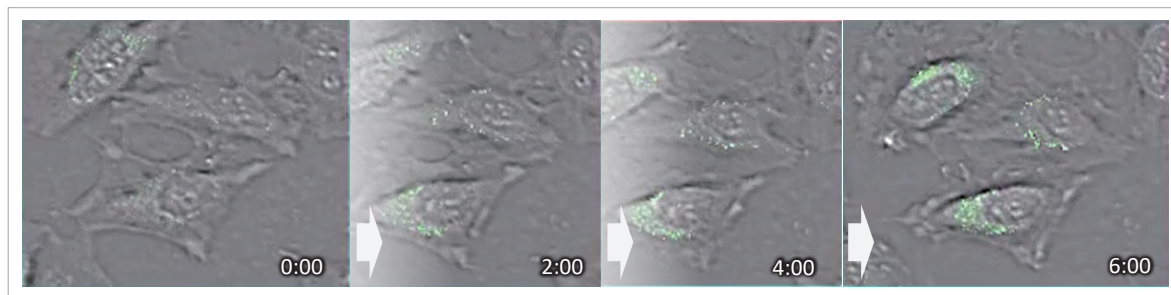
DAPRed および DALGreen で染色後の HeLa 細胞を増殖培地またはアミノ酸不含培地にて 5 時間培養し、共焦点顕微鏡にて観察しました。

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！

HeLa 細胞を DALGreen にて染色後、飢餓培養にて 6 時間までの細胞の状態を観察しました。



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。

検出条件

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)

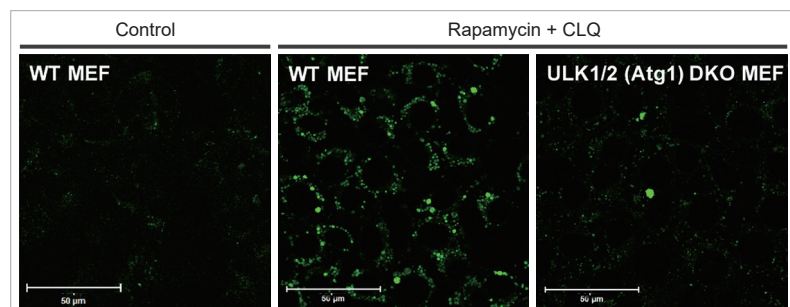
オートファジー誘導条件

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

ULK1/2 ノックアウト細胞での評価

DALGreen

MEF 細胞の野生株およびオートファゴソーム膜形成に関与している ULK1/2 をノックアウトした株を用いて Rapamycin と Chloroquine 刺激により比較しました。



結果

野生株においては DALGreen の蛍光強度の増大が確認されましたが、ULK1/2 ノックアウトマウスにおいては、蛍光の増大は殆ど確認できませんでした。

オートファジー誘導条件

DALGreen にて染色後、増殖培地または、500 nmol/L Rapamycin 及び 10 μmol/L Chloroquine を含む培地で 8 時間培養し、共焦点顕微鏡にて観察しました。

詳細は論文にて解説

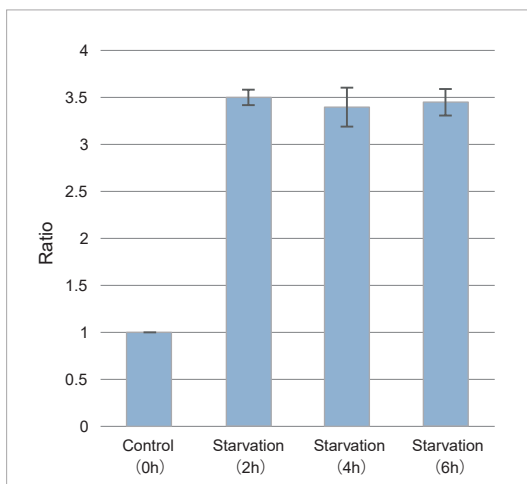
H. Iwashita, H. T. Sakurai, N. Nagahora, M. Ishiyama, K. Shioji, K. Sasamoto, K. Okuma, S. Shimizu and Y. Ueno, "Small fluorescent molecules for monitoring autophagic flux", *FEBS Lett.*, **2018**, 592(4), 559-567.



プレートリーダーでの定量解析

DAPGreen

オートファジー誘導後の DAPGreen の蛍光を、プレートリーダーにて検出しました。



結果

飢餓培養を開始してから2時間後には、コントロールより約3.5倍強い蛍光を確認しました。

検出条件

検出波長：Ex. 450 nm / Em. 535 nm

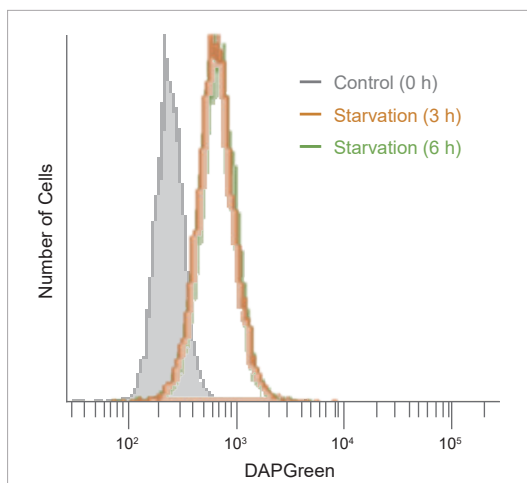
オートファジー誘導条件

DAPGreen で染色後の HeLa 細胞を、アミノ酸不含培地にて0、2、4、6時間培養し、プレートリーダーにて検出しました。

フローサイトでの定量解析

DAPGreen

オートファジー誘導後に、DAPGreen の蛍光をフローサイトメーターにて検出しました。



結果


飢餓培養開始から3時間後には、強い蛍光シグナルが検出されました。

検出条件

検出波長：Ex. 488 nm / Em. 500-560 nm

オートファジー誘導条件

DAPGreen で染色後の HeLa 細胞を、アミノ酸不含培地にて0、3、6時間培養し、フローサイトメーターにて検出しました。

品名	容量	希望納入価格	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

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(2019年3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。

キーワードで検索

オートファジー 同仁

検索

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 : 0120-052-099

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

Tel : 096-286-1515(代表)

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