

細胞内代謝測定シリーズ

シスチン取り込み能力を簡便に測る



特許出願中

▶ シスチン取り込み検出キット Cystine Uptake Assay Kit

新しい技術を動画で学ぶ

- ▶ アミノ酸取り込み技術 (約 20 分)
- ▶ シスチン取り込み技術 (約 20 分)



- ▶ グルコース取り込み検出キット (約 16 分)

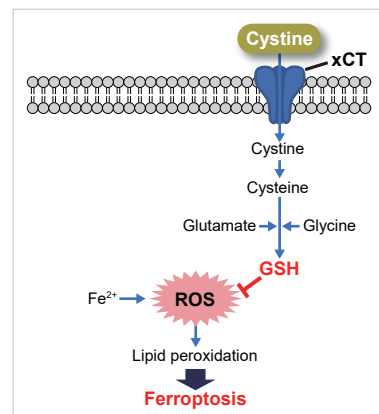


T. Shimomura, N. Hirakawa, Y. Ohuchi, M. Ishiyama, M. Shiga, Y. Ueno, "Simple Fluorescence Assay for Cystine Uptake via the xCT in Cells Using Selenocystine and a luorescent Probe.", ACS Sensors., 2021, 6(6), 2125-2128

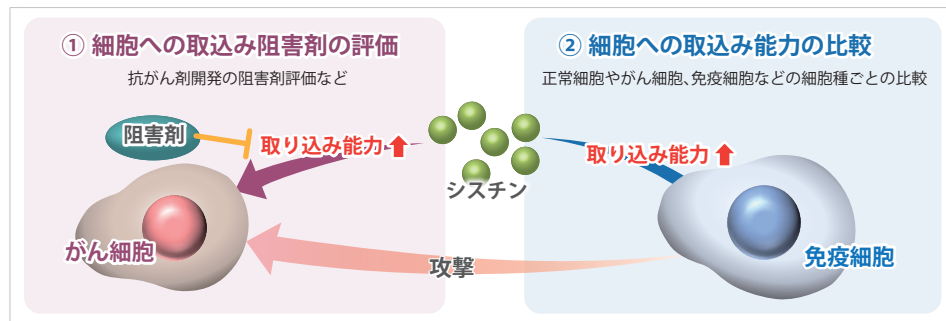
がん・免疫・フェロトーシス研究で注目のシスチン取り込み能力

シスチンは、シスチントランスポーターであるxCTによって細胞内に取り込まれており、抗酸化物質であるグルタチオン(GSH)の原料となるため、細胞内のレドックスバランスの制御に重要な役割を果たしています。

多くのがん細胞ではxCTを介したシスチン取り込みが亢進しており、細胞内のグルタチオン量を高レベルに保つことによって細胞内レドックスを制御しています。また、このような高レベルの細胞内グルタチオンががん細胞における薬剤耐性に寄与することが明らかとなっています。そのため、近年xCTはがん治療のターゲットの一つとして注目されています。xCT阻害剤であるスルファサラジンやエラスチンは、シスチン取り込みを阻害することによって細胞内グルタチオン量を低下させ、細胞死の一つであるフェロトーシスを誘導することが知られています。また、免疫細胞では活性化時にxCTを高発現することが知られており、シスチン取り込みを介した細胞内レドックス制御が免疫応答にも重要であることが示唆されています。



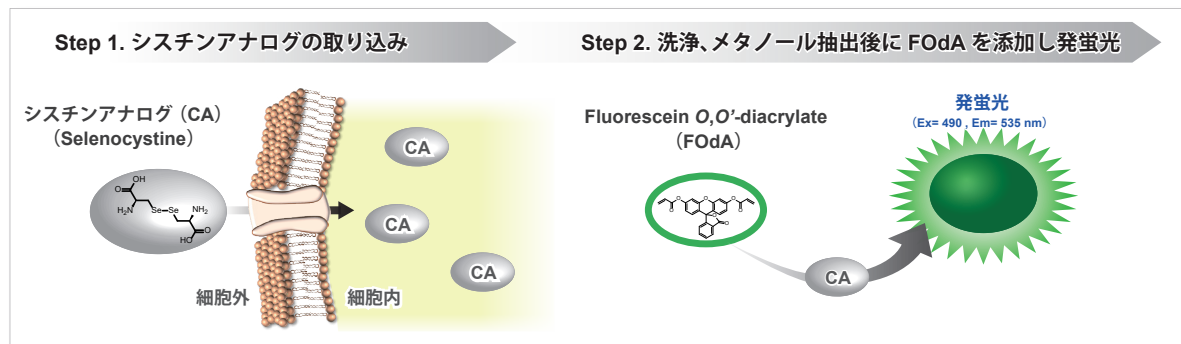
この製品でできること



本キットは、Cystine Analog (CA) と蛍光プローブを用いることにより、細胞のシスチン取り込み能力を簡便にプレートリーダーにて測定することが可能です。

測定原理

キットに含まれる Cystine Analog (CA) は、シスチンと同様に xCT を経由して細胞内に取り込まれます。細胞内に取り込まれた CA を抽出した後、還元剤存在下で検出用プローブ FODa と反応させることによって、CA 量に応じた蛍光シグナルを得ることができます。【特許出願中】



これからはじめる

細胞内代謝測定



データ集

細胞の栄養素取り込み



DOJINNEWS No.178

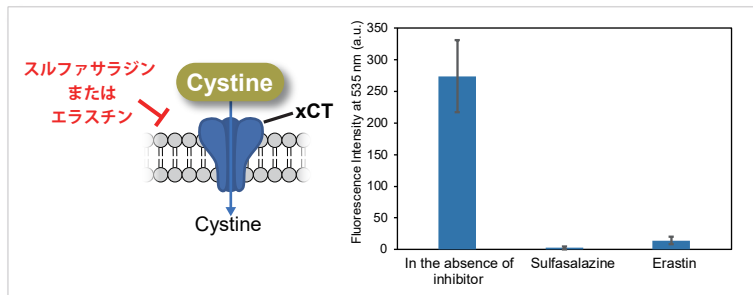
フェロトーシス

転写因子 BACH1 によるフェロトーシスの促進機構とフェロトーシスの伝播現象
Ferroptosis: Beauty or the Beast



実験例① xCT 阻害剤(スルファサラジン, エラスチン)による評価

本キットを用いて、HeLa 細胞へのスルファサラジン、エラスチンによる、シスチン取り込み阻害効果を測定しました。スルファサラジン、エラスチンを添加した群では優位に蛍光強度が減少している結果が得られ、いずれの薬剤もシスチン取り込みが阻害することが分かりました。

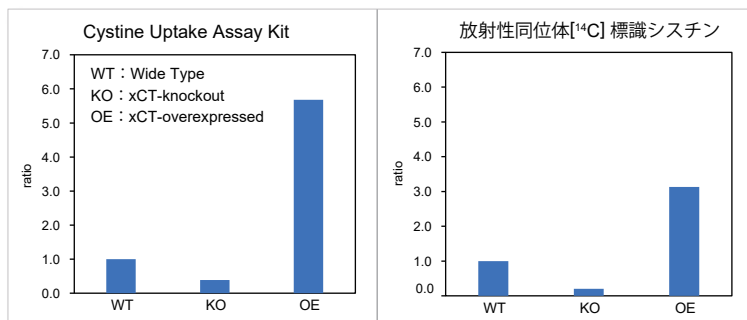


検出条件

細胞 : HeLa cells
 前処理 : DMEM (cystine-free, serum-free), 37 °C, 5 min
 取込条件 : 0.5 mmol/l sulfasalazine or 2 μmol/l erastin / Cystine Analog / DMEM (cystine-free, serum-free), 37°C, 30 min
 測定装置 : 蛍光プレートリーダー
 検出条件 : Ex=485 nm, Em=535 nm

実験例② ラジオアイソトープ (RI) 法との比較

RI 測定を要していたシスチン取り込みアッセイをプレートリーダーで簡便にできるようになりました。本製品と既存法の ¹⁴C 標識シスチンを用いた RI 測定法を用いて、Wild-type (WT), xCT-knockout (KO), xCT-overexpressed (OE) の 3 種の細胞における取り込み量を比較しました。その結果、どちらも WT と比較して、KO では取り込み量が減少し、OE では取り込み量が増加しました。したがって、本製品は RI 測定法に対して相関性があることが確認されました。



検出条件

細胞 : HT1080 cells (wild-type or xCT-knockout or xCT-overexpressed)
 ○ Cystine Uptake Assay Kit
 前処理 : PBS (+) (cystine-free, 0.1% glucose, 0.01% Mg²⁺, 0.01% Ca²⁺), 37°C, 5 min
 取込条件 : Cystine Analog / PBS (+) (cystine-free, 0.1% glucose, 0.01% Mg²⁺, 0.01% Ca²⁺), 37°C, 30 min
 ○ RI 法
 前処理 : 無し
 取込条件 : 0.05 mmol/l cystine + [¹⁴C]cystine (7.4 kBq/ml) / PBS (+) (0.1% glucose, 0.01% Mg²⁺, 0.01% Ca²⁺), 37°C, 2 min
 WT を基準とした時の取り込み量を比較しました。

※ 本データは新潟大学 医学部 保健学科 生化学・分子生物学研究室 佐藤 英世 教授 及び 佐藤 菜美 特任助教よりご提供頂きました。

製品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
NEW Cystine Uptake Assay Kit	20 tests	¥ 18,000	-	UP05
	100 tests	¥ 50,000	-	

※<使用回数の目安> 100 tests あたり 96-well plate 1 枚

関連情報

アミノ酸取り込み検出キット	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
NEW Amino Acid Uptake Assay Kit	20 tests	¥ 16,000	346-09891	UP04
	100 tests	¥ 45,000	342-09893	

※<使用回数の目安> 100 tests あたり、35 mm dish 10 枚 : 96-well plate 1 枚

グルコース取り込み検出キット	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
NEW Glucose Uptake Assay Kit-Blue	1 set	¥ 40,000	342-09871	UP01
Glucose Uptake Assay Kit-Green	1 set	¥ 38,000	347-09821	UP02
NEW Glucose Uptake Assay Kit-Red	1 set	¥ 40,000	349-09881	UP03

※<使用回数の目安> 35 mm dish 12 枚 : 96-well plate 1 枚

- 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。
- 記載価格はこのパンフレット編集時(2021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。
- 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。

論文・技術情報を随時更新中!

製品コード 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

熊本県上益城郡益城町田原 2025-5

お問い合わせ

技術的なお困りごとや、ご相談・ご要望などお気軽にご相談ください。



取扱店