

# 経路から見る

## オートファジーの誘導と阻害

▶ オートファジー経路測定キット  
Autophagic Flux Assay Kit



利用装置



A562 同仁

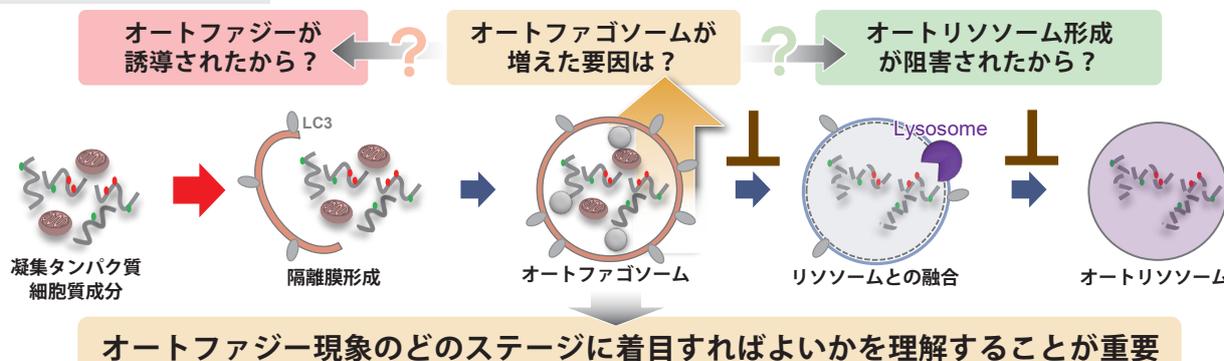
検索

### オートファジー経路を見る理由

細胞内の不要なタンパク質や細胞小器官を再利用または代謝するための分解過程であるオートファジーは、パーキンソン病などの神経変性疾患、老化に関与していることが分かかってきており盛んに研究されています。近年では、オートファジーを詳細に解析するため、オートファゴソームが増えた要因がオートファジー誘導によるものなのか、またはオートリソソーム形成阻害によるものなのかを区別する事が求められてきており、オートファジーによる一連の分解の流れを理解することが重要視されています<sup>1)</sup>。

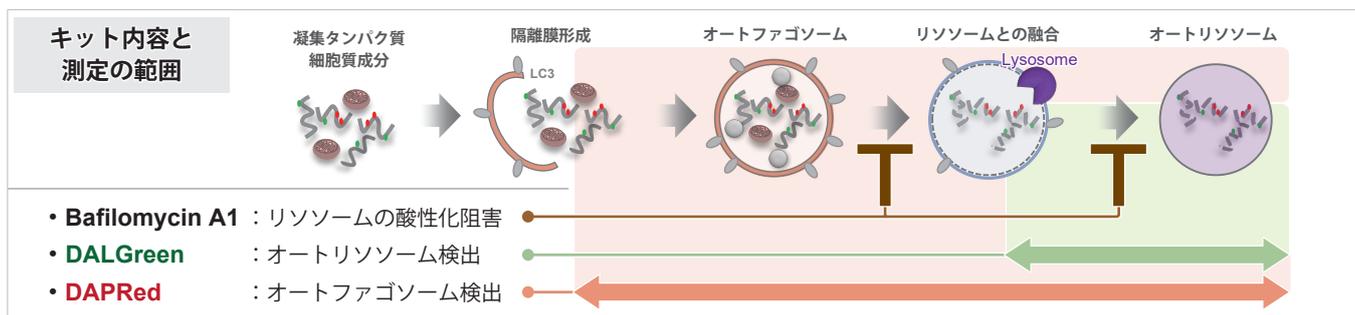
1) H. Sakurai, et al., *iScience*, 2023, 26, 107218.

#### オートファジーのステージ



### 本キットでできること

本キットには、オートファゴソームおよびオートリソソームを検出する DAPRed (DAPRed - Autophagy Detection) と、オートリソソームを検出する DALGreen (DALGreen - Autophagy Detection)、さらにリソソームの酸性化阻害剤 Bafilomycin A1 が同梱されています。試薬の添加だけでオートファゴソーム形成からオートリソソームの形成過程をモニタリングできます<sup>2), 3)</sup>。



### 蛍光変化からオートファジー経路を解析する

オートファジーの誘導や阻害と併せて本キットを使用することで、オートファジー経路をより詳細に解析できます。DAPRed と DALGreen を同時に使用することによって、オートファジーのステージが予想できます。

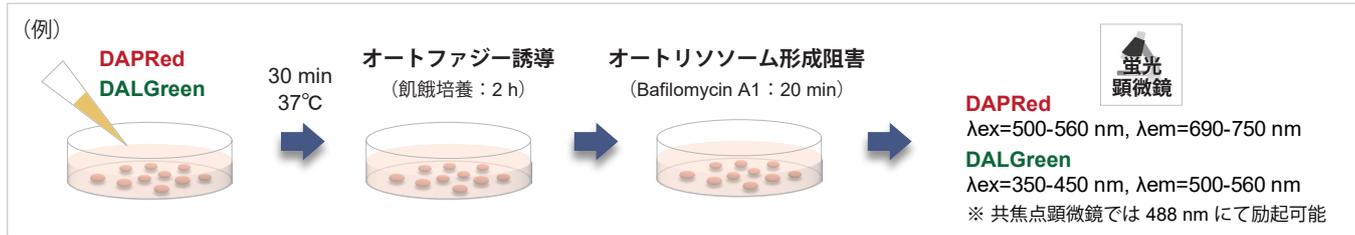
コントロールに対する蛍光変化		蛍光変化からの予想	代表的な薬剤 <sup>4), 5)</sup>
DAPRed	DALGreen		
↑	↑	オートファジー誘導またはオートリソソームが蓄積	E64d/Pepstatin A
↓	↓	オートファゴソームの形成段階が阻害されている	3-MA
↑または→	↓	オートリソソームの形成が阻害されている	Bafilomycin A1

2) X. Chen, et al., *Am J Transl Res.*, 2020, 12(9):4902-4922.  
3) C. Oh, et al., *J Neurosci.*, 2022, 42(14), 3011-3024.

4) N. Mizushima, et al., *Cell*, 2010, 140(3), 313-326.  
5) D. J. Klionsky, et al., *Autophagy*, 2021, 17(1), 1-382.

## シンプルな操作

細胞へ2種類の色素を同時に添加し、オートファジーの誘導・阻害を行い検出します。遺伝子導入等の操作は不要です。



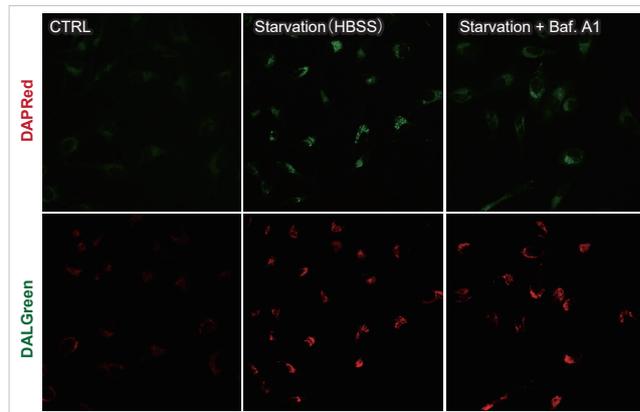
- ※ オートファジーの能力は細胞の種類によって異なるため、上記の共染色用プロトコルを使って事前に測定条件の最適化を行うことをお勧めします。
- ※ 本キットには条件検討用の Bafilomycin A1 が同梱されています。

## 実験例 リソソーム酸性化阻害剤 Bafilomycin A1 を用いたオートファジー経路の解析

リソソーム酸性化阻害剤を用いて処理した HeLa 細胞のオートファジー経路を解析しました。

その結果、HBSS で培養した HeLa 細胞において、DAPRed と DALGreen の蛍光が増大し飢餓培養によるオートファジーの誘導を確認しました。また、Bafilomycin A1 添加に伴うオートリソソームの形成阻害によりオートファゴソームが蓄積したことで DAPRed の蛍光は増加し、DALGreen は蛍光の低下が観察されました。

これらの結果より、本キットを用いてオートファジーの誘導からオートリソソームの形成阻害の過程を確認することができました。



製品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
<b>本製品</b> Autophagic Flux Assay Kit	1 set	¥ 39,000	348-10101	A562

〈使用回数の目安〉 1 set あたり、35 mm dish : 5 枚、 $\mu$ -Slide 8 well 5 枚、96-well Plate 1 枚

### 関連製品

製品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
<b>オートファゴソーム検出色素</b>				
DAPGreen - Autophagy Detection	5 nmol <sup>※1</sup>	¥ 40,900	340-09291	D676
DAPRed - Autophagy Detection	5 nmol <sup>※1</sup>	¥ 39,800	340-09551	D677
<b>オートリソソーム検出色素</b>				
DALGreen - Autophagy Detection	20 nmol <sup>※2</sup>	¥ 31,900	344-09191	D675
〈使用回数の目安〉 <sup>※1</sup> : 35 mm dish 25 枚、 <sup>※2</sup> : 35 mm dish 10 枚				
<b>リソソーム pH 検出キット</b>				
Lysosomal Acidic pH Detection Kit-Green/Deep Red	1 set <sup>※3</sup>	¥ 38,000	345-10111	L268
Lysosomal Acidic pH Detection Kit (Red/Green)	1 set <sup>※3</sup>	¥ 38,000	346-10021	L266

〈使用回数の目安〉<sup>※3</sup>: 1 set あたり、35 mm dish 10 枚、 $\mu$ -Slide 8 well 10 枚、96-well Plate 2 枚

- 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(2023年6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。
- 4) 記載の社名・商品名等の名称は、弊社または各社の商標または登録商標です。

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