

実験に即したセルベースアッセイの選び方

By Terry Riss, Ph.D., Martha O'Brien, Ph.D., and Richard Moravec, B.S., Promega Corporation

はじめに

様々なオプションを備えた多くの細胞増殖試験または細胞毒性試験から最適なシステムを選択することは、実験を組み立てる上で最初に直面する課題です。特定のニーズを満たす最良のアッセイフォーマットを選ぶには、それぞれのアッセイがエンドポイントとして何を測定しているのか？ その測定法がどのように細胞生存性に関連しているのか？ アッセイの反応原理における制限は何か？などをよく理解することが必要です。

ここでは、模範的なアッセイシステムの特長、自動化システム用のセルベースアッセイを選択する上で考慮すべきポイントについて言及します。また、プロメガの広範なホモジニアス・セルベースアッセイシステム（細胞生存性、細胞毒性、アポトーシス）を紹介するとともに、各アッセイの用法について説明します。

In Vitro モデルシステムの構築

しばしば、細胞毒性実験で使用する細胞の由来（動物種やタイプ）は、プロジェクトの目的や調べようとする薬剤の標的によって決定されます。選択したモデルシステムに関わらず、アッセイプレートセットアップする上で、一貫性や再現性を維持した操作を確立することは重要です。処理工程の各ステップにおける細胞株の保持・ハンドリングは、一貫性を保つために標準化し、検定されるべき項目です。テスト化合物に対するアッセイの反応性は、多くの微細なファクター（培地表面積と培地量の比率、ガス交換、液体の蒸発、エッジ効果など）に影響を受けます。このようなエフェクターは、特に96から384や1536ウェルフォーマットなどへアッセイ処理量を上げる場合に考慮すべき重要なポイントです。

測定するエンドポイントの選択

アッセイフォーマットを選択する前にまず決定すべきポイントの1つは、処理期間が終わる時点でどの情報について測定したいのかを明確することです。現在、死細胞の数（細胞毒性試験）、生存細胞の数（細胞生存性試験）、細胞総数、細胞死のメカニズム（例：アポトーシス）などを示す種々異なるマーカーを測定できるアッセイ法が利用できます。表1は、プロメガのホモジニアス・セルベースアッセイにおける測定パラメーター、検出感度、インキュベーション時間、検出方法を比較しています。細胞死の異なるメカニズムで起こる変化を基本的に理解することは、細胞毒性試験で選ぶべきエンドポイントを決定する場合に役立ちます。図1は、アポトーシスおよびネクローシスで起こる経時変化を簡略化したイラスト例で表すとともに、表1で示したアッセイ法で測定する各マーカーの予想される動向を示しています。

in vitroでアポトーシスを起こしている細胞は、最終的には2次的なネクローシスを起こすことになります。インキュベーションを延長した後、アポトーシス細胞はついに代謝機能を停止し、細胞膜の完全性が失われ、細胞質の内容物が培地に漏出されます。カスパーゼ活性などのアポトーシスのマーカーは、一時的に発現するだけであるため、アポトーシスが細胞死の主要なメカニズムであることを確認し、利用するモデルシステムが持つ細胞死プロセスの流れを理解することが必須です。

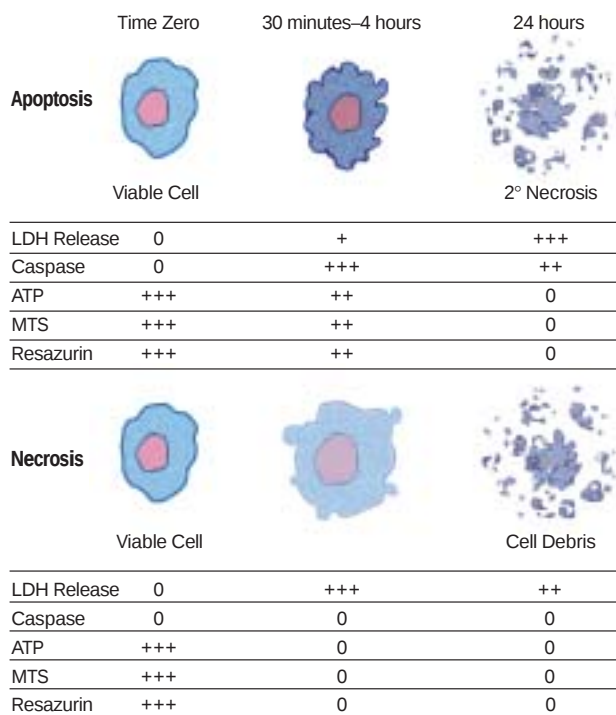


図1. in vitro 細胞生存性およびアポトーシスの異なるマーカー測定による細胞死メカニズムの決定

通常、ネクローシスを起こしている細胞は、急激に肥大化し、細胞膜の完全性が失われ、代謝機能が停止し、細胞質の内容物が周囲の培地に漏出します。In vitroで細胞が急速にネクローシスを起こす場合、アポトーシス機構を活性化する十分な時間とエネルギーが無いため、アポトーシスマーカーを発現しません。

アッセイから求める情報が単純に“未処理（ネガティブコントロール用ウェル）”と“毒性処理（実験用ウェル）”間の違いである場合、生存細胞または死細胞のどちらの数を測定してもかまいません。しかし、細胞死メカニズムのより詳細な情報が必要である場合は、毒物への暴露時間、テスト化合物の濃度、測定するエンドポイントの選択などが重要になります。

アッセイの反応性の特長

in vitroでの細胞毒性試験で使用するプロトコルは、様々です（図2）。通常アッセイプレートに細胞を接種してセットアップし、テスト化合物を加えるまでの間、平衡化します。また、すでにライブラリー化合物が分注されたプレートに直接細胞を加える場合もあります。毒物の暴露時間もプロジェクトの目的により分単位から数日と様々です。

テスト化合物が細胞に急激なネクローシスの障害を与える場合、比較的短い期間で決定されます。しかし、細胞増殖阻害の原因となる化合物をテストする場合、数日間の暴露が行われます。

表1. プロメガの細胞生存性試験の比較

	CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (ATP)	CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay	CellTiter 96® Aqueous One Solution Assay	CytoTox-ONE™ Membrane Integrity Assay	Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Assay	Caspase-Glo™ 3/7 Assay
インキュベーション時間	10 分間	1 ~ 4 時間	1 ~ 4時間	10分間	1 ~ 18時間	30分間 ~ 2時間
ホモジニアスプロトコル	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
測定パラメーター	ATP	レサズリン (還元能)	MTS (還元能)	LDH放出	カスパーゼ活性	カスパーゼ活性
検出法	生物発光	蛍光/発色	発色	蛍光	蛍光	生物発光
感度*						
96 ウェルフォーマット	50 cells	390 cells**	800 cells	800 cells	Several hundred cells in a population	20 cells
384 ウェルフォーマット	15 cells	50 cells**	200 cells	200 cells	Several hundred cells in a population	20 cells

*感度は細胞の種類やその他の実験条件に依存します。 **蛍光検出による測定の場合。

細胞生存性試験あるいは細胞毒性試験では通常、暴露期間の終わりに測定が行われます。測定可能なシグナルの生成に数分しかかからないアッセイ（ATP定量、LDH放出アッセイ）では、スナップショット的な情報を供給し、シグナルの生成に数時間のインキュベーションを要するアッセイ（例：MTS、レサズリン）に比べ有利です。利便性に加え、迅速なアッセイは、アッセイの反応に対するテスト化合物の干渉が原因となる人為的影響が起こる機会を減少させます。

In vitroでの培養細胞は異質な細胞集団として存在します。細胞集団がテスト化合物に暴露されると全てが同時に反応するわけではありません。細胞を毒物に暴露すると、細胞死のメカニズム、毒物の濃度、暴露時間など多くのファクターにより数時間から数日にかけて反応します。異質な細胞を培養する結果、多くのプレートを用いたアッセイフォーマットからのデータは細胞集団から発するシグナルの平均値を象徴しています。

添加量と暴露時間の決定

各in vitroモデルシステムのアッセイへの反応性を特徴付けることは、特に細胞死の異なるメカニズムを区別する場合に重要です。特徴を見極める最初の実験では、設定したポジティブコントロールを用いて適切なアッセイウィンドウを決定する必要があります。

図3および図4では、HepG2細胞を異なる濃度のタモキシフェンで処理し、細胞死のカイネティクスを決定する2つの前実験の結果を示しています。2つの実験では、それぞれ異なるエンドポイント（ATPは生存細胞のインジケーターとして、カスパーゼ活性はアポトーシス細胞のマーカーとして）を測定しています。

図3のATP測定データは、高濃度タモキシフェンが30分間の暴露で毒性を持つことを示しています。タモキシフェンへの暴露時間 延長によるIC₅₀値あるいは細胞の半数を“殺す”ために必要な添加量が低下することは、累積的な細胞毒性効果が起きていることを示唆しています。毒性化合物の濃度および暴露時間の両方が細胞毒性に寄与します。テスト化合物の適切な暴露時間後に測定することが重要であることを示すために、ATPアッセイで30μMのタモキシフェンを用いた場合、短時

間のインキュベーションでは毒性を持たないが、24時間後には100%の毒性が現れることを付記します。このように適切なインキュベーション時間を選択することが結果にも影響を及ぼします。

いくつかのアポトーシスマーカーの出現は一過性に起き、限られた時間枠でしか検出されない場合があります。図4のカスパーゼアッセイのデータは、アポトーシスを起こしている細胞での一過性のカスパーゼ活性出現を示しています。

タモキシフェン暴露24時間後に測定した総カスパーゼ活性は、短時間暴露に比べ非常に低い値を示しました。また暴露時間延長にともなうIC₅₀値の低下も同様の傾向を示していました。ATP測定とカスパーゼ測定データを合わせると、中程度のタモキシフェン濃度での短時間暴露で細胞はアポトーシスを起こすが、暴露後24時間では殆どの細胞集団で2次的なネクローシスの状態に遷移していることが分かりました。

自動スクリーニングのためのホモジニアスアッセイの例

プロメガでは、様々なスクリーニングへのご要望に合うようにデザインしたホモジニアスアッセイを取り揃えています。これらの“ホモジニアス”アッセイの標準的なプロトコルは、“添加 → 混和 → 測定”です。いくつかのアッセイシステムは試薬を調製するために構成成分を混和する必要があり、インキュベーションや攪拌ステップを要するプロトコルもありますが、アッセイの各ウェルからバッファーや培地を取り除く必要はありません。ご利用いただけるホモジニアス-アッセイシステムは、細胞生存性試験、細胞毒性試験、アポトーシスアッセイなどがあります。

MTSを用いた細胞生存性試験

CellTiter96® Aqueous Assayは、培養中の生細胞によりテトラゾリウム塩（MTS）を発色産物ホルマザンに還元する反応をベースにしています。MTSテトラゾリウムは、広く使用されているMTTテトラゾリウムと類似していますが、MTS還元によるホルマザン産物は培地に解ける性質を持ちます。生存する細胞の代謝によりNADHやNADPHなどの還元平衡が作られます。これらの還元化合物は電子伝達剤を通して電子を受け渡し、溶液中のMTSを還元し、ホルマザン産物を生成します。細胞が死ぬと、テトラゾリウム化合物を還元する能力が著しく損なわれるため、発色するホルマザン産物は培養中の生存細胞の数に比例します。

MTSベースのアッセイシステムであるCellTiter96® Aqueous One Solution Proliferation Assayは、ウェルあたり培地100μlに対して推奨試薬量20μlを直接加えます。細胞は37℃で1~4時間インキュベーションした後、490nmで吸光度を測定します。図5は、CellTiter96® Aqueous

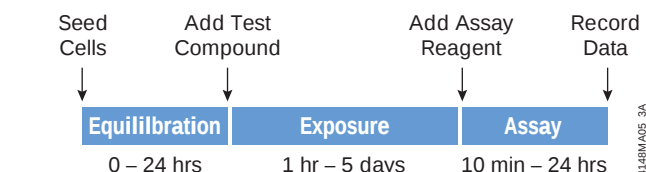


図2. in vitro毒性試験プロトコルにおける一般的なスキーム

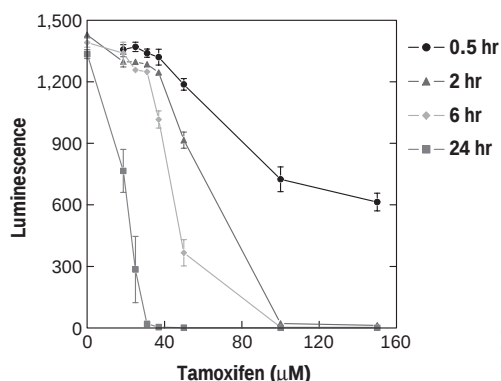


図3. 細胞生存性の指標であるATP測定のためのCellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assayを用いたHepG2細胞へのタモキシフェンの毒性効果の解析

One Solution Proliferation Assayを用いたタモキシフェンのIC₅₀値を決定するための実験例を示します。検出感度は細胞約1000個です。このアッセイ原理は広く受け入れられており、数百の公表文献で使用されています。

細胞生存性試験のためのATPアッセイ

細胞内のATP量は細胞生存性と相関関係にあります。細胞膜の完全性が失われて数分以内にATP合成能が失われ、内在性のATPaseが残存するATPを破壊し、ATPレベルは急激に低下します。

CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assayは、生存する培養細胞の数を決定するホモジニアス法を採用したシステムです。検出方法は、生存細胞のATP量を測定するためにルシフェラーゼ反応をベースにしています。CellTiter-Glo® Reagentを細胞に添加すると3つの反応が起こります。まず、細胞膜を溶解してATPを遊離させ、ATPaseを阻害し、生物発光反応でATPを測定するために必要なルシフェリン/ルシフェラーゼを供給します。特殊な安定型ルシフェラーゼ変異体のユニークな特性により、頑健な1ショットタイプの試薬を開発することができました。“グロタイプ”のシグナルはルミノメーター、CCDカメラや特別なフルオロメーターで測定することができ、通常5時間の半減期を持ちえるため、多くのプレートのバッチ処理を通して一貫したシグナルを得ることができます。CellTiter-Glo® Assayは非常に高感度で、15個の細胞でも検出することができます。一貫性を保つためにアッセイの前にアッセイプレートを室温に平衡化することを推奨しますが、アッセイ自体は迅速に行うことができます。発光シグナルは試薬添加後10分で検出することもできますが、プレートのバッチ処理を行うために数時間後にアッセイできる柔軟性も併せ持っています。図3にデータ例を示します。

レサズリン還元を利用した細胞生存性試験

レサズリンは生細胞内で蛍光レゾルフィン産物に還元されます。レサズリンからレゾルフィンへの変換は、細胞集団中で代謝活性を有する生存細胞の数に比例します。

CellTiter-Blue™ Cell Viability Assayでは、レサズリンを含有する最適化された試薬を使用します。このホモジニアス法は、培地100μlに対して試薬20μlの推奨比率で培養細胞に直接添加します。アッセイプレートは、生存細胞がレサズリンを蛍光レゾルフィン産物に変換するために37℃で1~4時間インキュベーションします。シグナルは標準的なマルチウェルタイプのフルオロメーターで測定することができます。細胞タイプによりレサズリンの還元能は異なるため、モデルシステムに

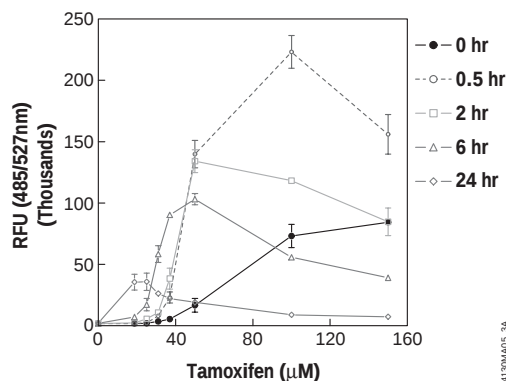


図4. アポトーシスマーカーであるカスパーゼ測定のためのApo-ONE® Assayを用いたHepG2細胞へのタモキシフェンの影響の解析

よってCellTiter-Blue™とのインキュベーション時間を最適化することにより、感度を改善することができます。検出感度はATPアッセイとMTS還元アッセイとの中間程度です（表1）。

CellTiter-Blue™ Assayは、様々なデータを収集するために他のアッセイとの併用によるマルチアッセイ（マルチプレックスアッセイ）が行えるシンプル、低コストな方法です（図6）。細胞と試薬とのインキュベーション時間は柔軟で、フルオロメーター、分光光度計を用いてデータを得ることができます。このアッセイは、ハイスループットスクリーニングで優秀なZ' factor 値を示します（Technical Bulletin #TB317）。

LDH漏出 細胞毒性試験

細胞が膜の完全性を失うと乳酸脱水素酵素（LDH）が周囲の培地に漏出します。CytoTox-ONE™ Homogeneous Membrane Integrity Assayは、ダメージを受けた細胞から漏出するLDHを細胞毒性のインジケーターとして、2つの酵素反応を利用して測定する蛍光法です。本アッセイは、生細胞集団と死細胞集団の混在する中で、生存性を失った細胞数を見積もるためにデザインされています。また、細胞溶解剤を使用した場合、同じ原理で細胞集団の全細胞数の決定にも使用することができます。

LDHは、NADHの合成を伴う乳酸からピルビン酸への変換を触媒します。CytoTox-ONE™ Reagentには、LDH反応およびNADH合成を駆動するために過剰量の基質（乳酸、NAD+）が含まれています。このNADHは、ジアホラーゼおよびレサズリンの存在下でジアホラーゼに触媒される蛍光レゾルフィン産物の生成過程で使用されます。生理的なpH、塩濃度で進行する反応条件の開発により、CytoTox-ONE™試薬は生細胞にダメージを与えず、細胞培養で直接行えるホモジニアスアッセイを可能にしました。迅速なCytoTox-ONE™ Assayは、通常10分間のインキュベーション時間を必要とするだけです。これらのアッセイ条件下で、生細胞集団によるレサズリンの顕著な還元はありません。

CytoTox-ONE™は、96および384ウェルフォーマットに適応します。検出感度は細胞数百個ですが（表1）、補完培地で使用される血清中に存在するLDH活性により制限を受ける場合があります。Biomek® 2000 Workstationにより自動化した場合、CytoTox-ONE™ Assayは優秀なZ' factor値を示しました（図7）。

アポトーシス検出のための蛍光カスパーゼ-3/7アッセイ

カスパーゼは、アポトーシスの過程で活性化するタンパク質分解酵

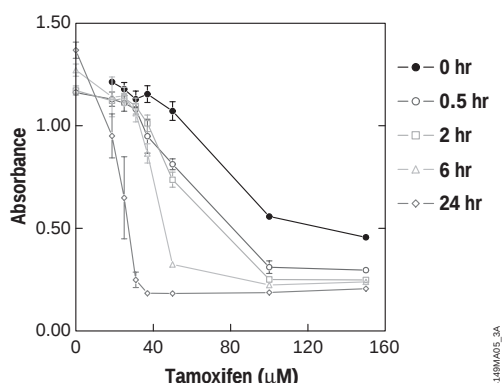


図5. 細胞生存性の指標であるMTS還元能測定のためのCellTiter 96® Aqueous Assayを用いたHepG2細胞へのタモキシフェンの毒性効果の解析

素で、様々な標的タンパク質を分解します。カスパーゼの活性化は、重要な細胞内DNA修復エレメント、構造ポリペプチド、シグナル伝達キナーゼの破壊を誘導します。カスパーゼ-3および-7などの執行カスパーゼの活性化検出は、細胞内アポトーシスの信頼性の高いインジケータです。

Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Assayは、蛍光前駆物質 DEVDペプチド-ローダミン110基質[(Z-DEVD)2-R110]の分解を利用してカスパーゼ-3/7を検出します。Apo-ONE® 試薬はバッファーと基質を混和して調製します。試薬は、試薬と培地の比率1:1で培養ウェルに直接添加します。ウェルの内容物を混和し、通常1~2時間 室温でインキュベーションし、フルオロメーターで蛍光シグナルを計測します。試薬はカスパーゼを漏出させるために細胞を浸透化させ、蛍光前駆基質を供給し、カスパーゼ活性を安定化させる至適条件を与えます。蛍光R110産物はカスパーゼ-3/7活性の存在下で継続的に蓄積され、インキュベーション時間を最大18時間まで延長すれば、S/N比を増加させ、高い感度を得ることができます。Apo-ONE® Assayは、ハイスループットスクリーニングでの微細化の要求を満たすために試薬:サンプル比を1:1に維持したままスケール変更を自在に行うことができます。

Apo-ONE® Assayの主な利点は、蛍光前駆R110基質が他の蛍光カスパーゼアッセイに較べ高感度検出を可能にする点です。R110は、高い減衰係数および蛍光収量を持ち、他のカスパーゼアッセイに汎用されるクマリン (AMCやAFC) より光安定性に優れます。検出感度は細胞数百個 (表1) ですが、インキュベーション時間にも影響されます。Apo-ONE® Assayのデータセットの例を図6に示します。

アポトーシス検出のための発光カスパーゼ-3/7アッセイ

Caspase-Glo™ 3/7 Assayは、ホモジニアスアッセイシリーズに新たに加わったシステムです。本アッセイは、DEVDペプチド-アミノルシフェリン基質の分解をもとにカスパーゼ-3/7活性を測定します。カスパーゼは基質を分解し、アミノルシフェリンを遊離させます。これは光の生成に利用されるルシフェラーゼの基質として消費されます。

Caspase-Glo™ Reagentは、凍結乾燥した基質とバッファーを混和して調製されます。この試薬は、試薬:培地の比率1:1で細胞に直接添加します。細胞と試薬は混和され、室温で30分から3時間インキュベーションし、発光を測定します。“グロータイプ”の発光シグナルを測定するため、インキュベーション時間は柔軟に変更することができます。インキュベーション約30分~1時間後の安定期に達すれば、2つの酵素的アッセイで生じる発光シグナルは、カスパーゼ3および7活性に直接

比例した広い直線性を持ちます。

Caspase-Glo™ Assayはカスパーゼアッセイの中で最も感度の高いアッセイです。検出感度のレベルは、アポトーシス細胞約20個です (表1)。この発光アッセイは非常に高感度で、血清中のカスパーゼ活性でも検出することができます。このアッセイでは発光を測定するため、蛍光化合物が結果に影響を与えないという利点も付加します。

アッセイを選択する上で考慮すべきその他の因子

セルベースアッセイでは、多くの研究者は第一に使いやすさを考慮します。ホモジニアスアッセイは培地の除去、細胞の洗浄、遠心ステップを必要としません。また、アッセイ法を選ぶ場合、試薬の調製時間、アッセイの反応開始からシグナルを得るまでに要するトータル時間を考慮する必要があります。発色、蛍光、発光のシグナル安定性は、データ測定の利便性、柔軟性の有無、あるいはプレートの大量バッチ処理を行う場合の違いを最小限に抑えるために重要な因子です。また、検出感度もアッセイ法を選ぶ上で考慮すべき因子の1つです。ATPレベル、MTSテトラゾリウム還元などの代謝マーカーを測定する場合、検出感度は細胞のタイプにより異なります。アッセイ法によっては、インキュベーション時間の延長によるS/N比改善により増感することができます。感度は、測定するパラメーターだけでなく、プレートフォーマットや1ウェルあたりに使用する細胞数など、モデルシステムのその他の特徴にも依存します。10,000個もの細胞集団から生存性の変化を検出するデザインの場合は、最高感度のアッセイ技術は必要ありません。例えば、テトラゾリウムアッセイは10,000個と8,000個の生細胞の違いを容易に検出します。一方、高密度のマルチウェルプレートフォーマットで少数の細胞を用いるアッセイモデルシステムの場合、発光ATPアッセイ技術のようなバックグラウンドを抑えた最大の検出感度が要求されます。自動化スクリーニングシステムを使用する研究者にとって、試薬の安定性や自動化システムへの適応性は重要です。アッセイ試薬は、一定時間 室温で安定でなければなりません。さらに、アッセイにより生じるシグナルの安定性は、データの記録に柔軟性を与えるために長時間維持される必要があります。例えば、半減期5時間のATPアッセイからの発光シグナルは、データの記録に適切な柔軟性を与えます。MTSテトラゾリウムアッセイやLDH漏出アッセイなどのフォーマットでは、停止液に含まれる界面活性剤の添加によりシグナルを安定化することができます。発色、蛍光、発光を検出できる機器を利用できるかどうかによりアッセイ法を選択することもある

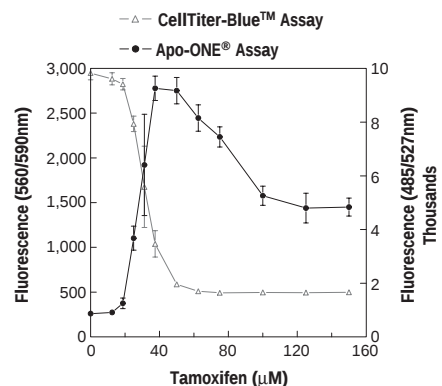


図6. 細胞生存性のマルチプレックスアッセイ

HepG2細胞 (100μlあたり10,000個の細胞を一晩培養) は様々な濃度のタモキシフェンで5時間処理した。生存性は、薬剤処理3.5時間後、各ウェルにCellTiter-Blue™ Reagent (20μl/ウェル)を添加し、1時間のインキュベーション後に蛍光を測定 (560Ex/590Em) して生存性を決定した。その後、ウェルあたりApo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Reagent 120μlを添加し、0.5時間のインキュベーション後に蛍光を測定 (485Ex/527Em) してカスパーゼ活性を決定した。

かもしれません。プロメガの製品ラインナップにはセルベースアッセイの3つの主要クラス（細胞生存性、細胞毒性、アポトーシス）のそれぞれに最適の検出フォーマットを用意しています。さらに、ATPアッセイなどいくつかのアッセイでは、1タイプ以上の機器（ルミノメーター、フルオロメーター、CCDカメラ）で測定することができます。

コストはどの研究者にとっても重要な選択要因です。しかし、アッセイの総ランニングコストにかかる多くの要因については見逃されがちです。前述したアッセイはホモジニアス法であり、マルチステップアッセイに較べてより効率的です。例えばATPベースアッセイのスピード（時間の節約）、感度（細胞サンプルの節約）、精度は、初期コストを超えた性能を発揮します。優れた検出感度を持つアッセイは、384あるいは1536ウェルフォーマットへのスケールダウンを容易にするため、細胞培養に使用する試薬を節約し、高価または稀少なテスト化合物の使用を微量に抑えることができる可能性があります。同一サンプルからの1セット以上のデータ収集（例：マルチアッセイ[マルチプレックス]）も、時間や労力の削減に寄与すると考えられます。同一の培養ウェルから1種類以上のマルチアッセイが行えれば、内部標準値を得ることができるため、反復実験を必要としなくなります。図6に細胞生存性（CellTiter-Blue™ Assay）とカスパーゼ（Apo-ONE® Assay）の同一ウェルでの連続測定の例を示します。LDH放出アッセイもマルチアッセイのできる例です。LDH放出アッセイでは培地上清の一部を異なるアッセイプレートに移し、細胞毒性データを収集することができます。そのため、残りのオリジナルアッセイプレートをレポーター遺伝子のイメージング分析などその他のアッセイに利用することができます。

データの再現性は市販のアッセイを選択する上で重要です。しかし、多くのセルベースアッセイで起こる反復サンプルのバラツキは、アッセイの反応よりも細胞自体が原因となる場合が多くあります。細胞のプレーティング時のバラツキは、分散しにくい細胞株を使用することにより拡大します。インキュベーション時間の延長やプレートのエッジ効果は反復実験の再現性、Z' factor値を低下させます。

アッセイの選択において見逃しがちなポイントは技術サポートです。プロメガのテクニカルサービス部では熟練したスタッフが対応しており、質問への応答やトラブルシューティングの手助けを電話、Eメール、ファックスで行っています。アッセイ原理に対するさらに詳細な技術情報や自動化法についてはプロメガのWeb Site（オンライン）でご利用いただけます。

まとめ

適切なセルベースアッセイやエンドポイントを選択することは、研究の問いに正確、迅速に答えてくれる良質なデータを得るために重要なポイントです。プロメガのセルベースアッセイの製品群は、様々なハイスループットスクリーニングのニーズに適したアッセイが幅広く揃えられています。これらの製品は、プロメガの品質、信頼性、技術サポートによりバックアップされています。プロメガのセルベースアッセイに対するさらに詳細な情報はweb site www.promega.com/techservをご覧ください。

プロトコル

- ◆ CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Technical Bulletin #TB245 (www.promega.com/tbs/tb245/tb245.html)
- ◆ CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay Technical Bulletin #TB288 (www.promega.com/tbs/tb288/tb288.html)
- ◆ CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay Technical Bulletin #TB317 (www.promega.com/tbs/tb317/tb317.html)
- ◆ CytoTox-ONE™ Homogeneous Membrane Integrity Assay Technical Bulletin #TB306 (www.promega.com/tbs/tb306/tb306.html)

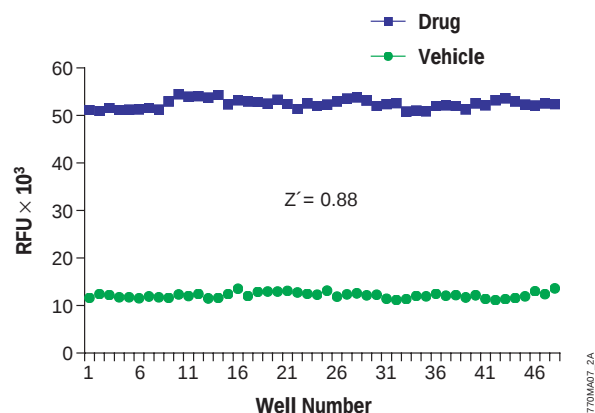


図7. CytoTox-ONE™ Assayを用いてBiomek® 2000 workstationで処理したプレートの1枚はZ'-factor 0.88を示した

HepG2細胞は96ウェルの組織培養用の処理をしたホワイトプレート（透明底）に播種した（細胞密度 40,000個/ウェル）。細胞はコンフルエントになるまで培養し、プレートの半分を3.125μMスタウロスポリンで、残りの半分をDMSO(媒体コントロール)で処理した。Biomek® 2000 workstationのためのプレート2枚用プロトコルを構築し、プレートは蛍光プレートリーダーで測定した。

- ◆ Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Assay Technical Bulletin #TB295 (www.promega.com/tbs/tb295/tb295.html)
- ◆ Caspase-Glo™ 3/7 Assay Technical Bulletin #TB323 (www.promega.com/tbs/tb323/tb323.html)

製品案内

製品名	サイズ	カタログ番号	価格(¥)
CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay	10ml	G7570	12,000
	10 × 10ml	G7571	50,000
	100ml	G7572	45,000
	10 × 100ml	G7573	330,000
CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay	200回分	G3582	10,000
	1,000回分	G3580	32,000
	5,000回分	G3581	99,000
CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay	20ml	G8080	16,000
	100ml	G8081	45,000
	10 × 100ml	G8082	390,000
CytoTox-ONE™ Homogeneous Membrane Integrity Assay	200-800回分	G7890	16,000
	1,000-4,000回分	G7891	49,000
Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Assay	1ml	G7792	6,000
	10ml	G7790	58,000
	100ml	G7791	250,000
Caspase-Glo™ 3/7 Assay	2.5ml	G8090	16,000
	10ml	G8091	60,000
	100ml	G8092	290,000