

グルコースの取込みとエネルギー代謝

糖尿病やがんなどの種々の疾患において、細胞内の代謝経路が大きく変化していることが明らかになっており、疾患特異的な代謝経路が有用な治療標的となりうると考えられています。プロメガでは細胞内の様々なシグナル経路やシグナル因子を測定する技術を提供しており、このセクションでは新たに登場した代謝経路を標的としたアッセイシステムを紹介します。

発光テクノロジーによるグルコース取り込み活性評価

生体を構成する細胞において、グルコースは主要なエネルギー源の1つです。これまで放射性標識、蛍光または吸光により取り込み活性の測定が行われてきましたが、従来法では感度やバックグラウンドなどに問題がありました。これらの問題点を改善すべく、プロメガでは発光での測定アッセイ **Glucose Uptake-Glo™ Assay** を開発しました。従来法と同じく、蓄積された 2-デオキシグルコース-6-リン酸 (2DG6P) を発光シグナルに変換することでグルコースの取り込み能を評価します。さらにプロトコルも見直し、**細胞の洗浄がほぼ不要の Add to Measure プロトコル**により、**簡便な測定が可能**になりました (図 1)。

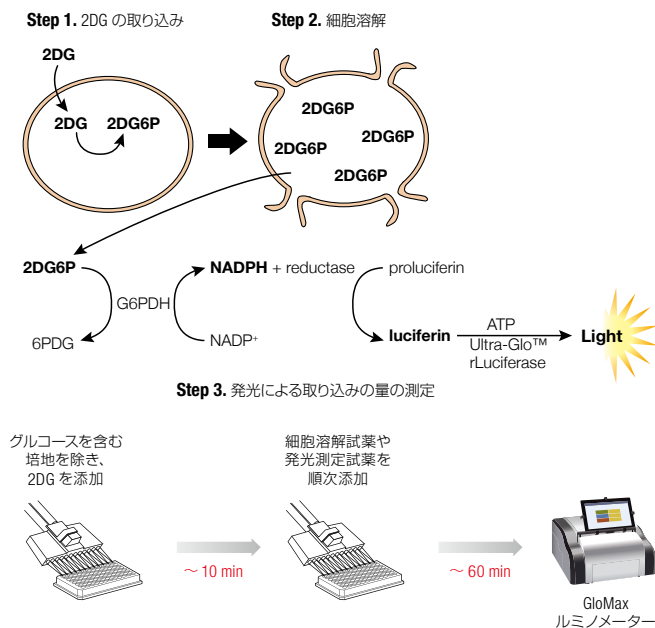


図 1. Glucose Uptake-Glo™ アッセイの概要と手順

グルコース類似体 2-デオキシグルコース (2-DG) を細胞に取り込ませ、グルコースの取り込み量を発光シグナルに変換して評価する (上図)。プロトコルが大幅に簡便化され、約 70 分で測定結果が取得可能 (下図)

発光テクノロジーの代謝アッセイへの応用

Glucose Uptake-Glo™ Assay で培った技術をさらに他の代謝産物や栄養成分の測定アッセイに応用しました。これまでに乳酸、グルタミン、グルタミン酸などを発光シグナルに変換して測定することに成功しています (図 2)。この技術を活用した例として、図 3 に代謝経路の変化を観察した結果を示しました。細胞では酸素が欠乏するとミトコンドリアでの代謝反応に進まず、解糖系が働きます。乳酸は解糖系の最終生成物であり、分泌された乳酸は解糖系の活性化の指標となります。2つの乳がん細胞株を低酸素条件下で培養したところ、MCF7 細胞では低酸素条件下において乳酸の分泌量が増加している結果が得られ、解糖系への代謝経路の変化が観察されました。一方で、MDA-MB-231 細胞は低酸素誘導因子 HIF1 が高発現しており、恒常的に解糖系が亢進しているため、代謝経路の変化は観察されませんでした。

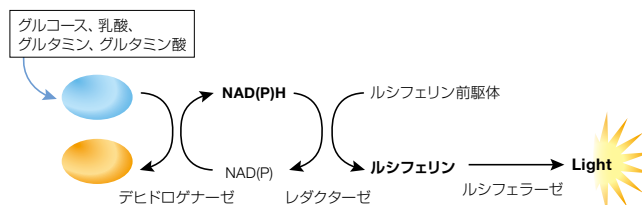


図 2. プロメガの代謝アッセイの測定プラットフォーム

代謝産物や栄養成分に対する特異的なデヒドロゲナーゼとレダクターゼを用いた方法により、代謝産物・栄養成分を発光シグナルに変換して測定。

MDA-MB-231 細胞のように、がん細胞では正常細胞と比較し、種々の代謝経路に異常がみられることが明らかになっており、有用な治療標的の1つとして捉えられています。プロメガのシンプルな発光測定法は**バラつきも最小限に抑えられており**、疾患特異的な代謝経路を標的とした化合物の**ハイスループットスクリーニングにも最適**です。

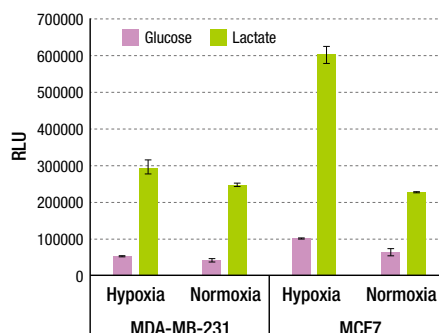


図 3. 発光テクノロジーを用いた代謝シフトの解析

乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞と MCF7 細胞を通常酸素分圧下 (約 20% O₂) および低酸素条件下 (3% O₂) でそれぞれ培養し、細胞内グルコース量と分泌された乳酸量を比較した。MCF7 細胞では低酸素条件下で培養することにより、乳酸の産生量が亢進し、解糖系への代謝シフトが観察された。一方で、MDA-MB-231 細胞では代謝経路の変化は観察されていない。

キーポイント

- ✓ **高感度** ➡ 従来法の蛍光や吸光よりも高感度。RI 法とも同等の感度。
- ✓ **RI 不要! スムーズな測定プロトコル** ➡ 細胞の洗浄がほぼ不要。Add to Measure の簡単プロトコル
- ✓ **マルチアッセイへの応用** ➡ 同一ウェル内で細胞生存性試験が実施可能

最後に

ここで紹介した Glucose Uptake-Glo™ Assay の他にもプロメガでは、代謝経路を標的とした薬剤の評価・創薬をサポートする製品を開発中です。また、同一細胞サンプルを用いたマルチプレックス解析が可能な組み合わせを多数構築しています。例えば、細胞内の ATP により生細胞を測定する CellTiter-Glo® や還元能から生細胞を測定する RealTime-Glo™ とのマルチプレックス解析を行っており、1枚のプレートからルミノメーターだけで、代謝産物や栄養成分の測定アッセイと生細胞アッセイが実施可能になっています。詳細については弊社 Web サイトを参照いただくか直接お問い合わせください。

関連製品

	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
グルコースの取込み量測定			
Glucose Uptake-Glo™ Assay	5 ml	J1341	63,000
	10 ml	J1342	110,000
	50 ml	J1343	440,000
CellTiter-Glo® 2.0 Assay	10 ml	G9241	15,000
	100 ml	G9242	59,000
RealTime-Glo™ MT Cell Viability, 100	100 回分	G9711	20,000
	10 × 100 回分	G9712	97,000

⑨ キャンペーン対象製品：詳細については 8 ページをご覧ください。

PG プロメガクラブ対象製品です。詳細については 8 ページをご覧ください。

アッセイキット	測定用途	カタログ番号
Glucose Detection assay	細胞内グルコース量の測定	お問い合わせ下さい
Lactate Detection assay	細胞内乳酸量の測定	お問い合わせ下さい
Glutamate Detection assay	細胞内グルタミン酸量の測定	お問い合わせ下さい
Glutamine Detection assa	細胞内グルタミン量の測定	お問い合わせ下さい