

マルチプレックスアッセイへの対応

分化誘導や化合物刺激の後に、細胞の代謝を調べたい場合、化合物処理や分化誘導が細胞にダメージを与えてしまったり、生存性に影響を及ぼしてしまい、アッセイ結果に影響が出てしまう事はありませんか？特に図3のような分化誘導をおこなったサンプルや生体由来の細胞、未分化な細胞といった貴重なサンプルには、出来る限り1つの実験で複数のパラメーターが取得できる実験が望ましいのではないのでしょうか？

プロメガではマルチプレックスアッセイ（同一のサンプルに対して、複数パラメーターを取得するアッセイ）にて、より精度の高いデータを取得する実験を推奨しており、様々な組み合わせの事例があります。

図4は細胞内のグルタミン酸量の測定と合わせて、生存細胞数と細胞内ATP量を測定したアプリケーションです。まず、生細胞の還元能を指標としたRealTime-Glo™アッセイまたは生細胞に特異的なプロテアーゼ活性を測定するCellTiter-Fluor™ 蛍光アッセイで生細胞を測定しました。次に細胞ライセートを用いたグルタミン酸量の測定やCellTiter-Glo® アッセイを用いて生細胞由来のATPを測定しています。貴重なサンプルでのアッセイにおいて余すところなくデータを取得することができます。

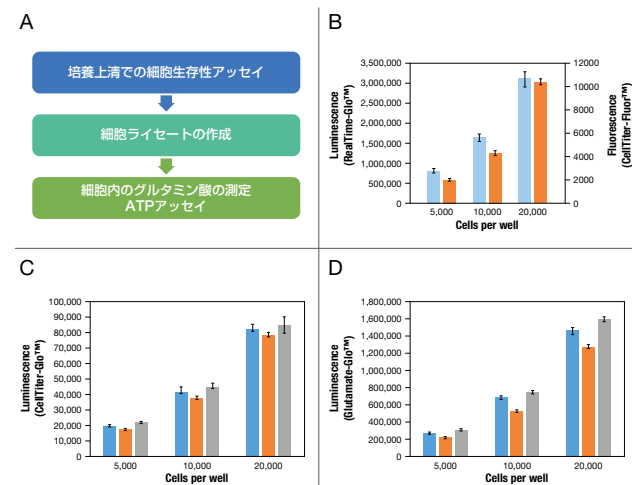


図4. グルタミン酸量の測定アッセイのマルチプレックス例

A549細胞を各細胞数でwellに播種し、生存細胞、細胞内グルタミン酸量、ATP量の測定を行った。

- A. アッセイの概要と流れ
B. 培地中での生細胞試験（青色のバー：RealTime-Glo™）と、蛍光法での生細胞試験（オレンジ色のバー：CellTiter-Fluor™）
C. 調製した細胞ライセートに含まれるATP量をCellTiter-Glo® 2.0 Assayにて測定（青色のバー：RealTime-Glo™）実施後の細胞（オレンジ色のバー：CellTiter-Fluor™）実施後の細胞（グレーのバー：未処理の細胞）
D. 調製した細胞ライセートに含まれるグルタミン酸量をGlutamate-Glo™ Assayにて測定（上記と同様）

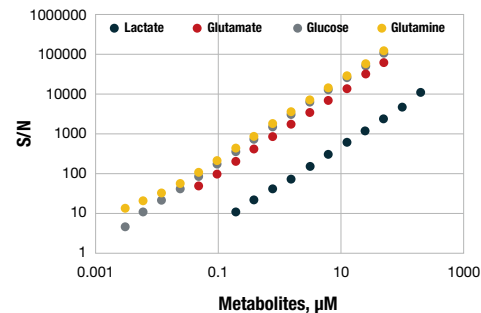
関連製品

Assay kit	測定用途	サイズ	カタログ番号	価格(¥)
Lactate-Glo™ Assay	乳酸量の測定（発光）	5 ml	J5021	74,000
Glucose-Glo™ Assay	グルコース量の測定（発光）	5 ml	J6021	67,000
Glutamate-Glo™ Assay	グルタミン酸量の測定（発光）	5 ml	J7021	74,000
Glutamine/Glutamate-Glo™ Assay	グルタミンとグルタミン酸量の測定（発光）	5 ml	J8021	80,000
CellTiter-Glo® 2.0 Assay	生細胞測定（ATP・発光）	10 ml (100 回分)	G9241	15,000
CellTiter-Fluor™ Cell Viability Assay	生細胞測定（生プロテアーゼ・蛍光）	10 ml (100 回分)	G6080	17,000
RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay	生細胞測定（還元能・発光）	100 回分	G9711	20,000
Glucose Uptake-Glo™ Assay	グルコース取り込み量の測定（発光）	5 ml (50 回分)	J1341	63,000

最後に

図2や4の例のように、プロメガの発光アッセイではわずか数μLのサンプルからでも測定を行う事が可能です。図5に各アッセイの測定レンジを示しました。この発光アッセイ法はpico mol レベルからの検出が可能であり、測定レンジも広いため従来の蛍光法では解釈が困難な実験結果を明瞭に示すことができます。

この他、様々なアプリケーション例を開発中であり、iPS細胞由来の分化細胞や分化誘導した脂肪様細胞、T細胞の代謝活性評価なども行っています。詳細は弊社 Web サイトを参照いただくか、お気軽にお問い合わせください。



測定サンプル	検出下限	直線性	S/B 比
Lactate	100nM (5pmol/50 μl)	Up to 200 μM	>240
Glucose	5nM (0.25pmol/50 μl)	Up to 50 μM	>1000
Glutamine	5nM (0.25pmol/50 μl)	Up to 50 μM	>1000
Glutamate	5nM (0.25pmol/50 μl)	Up to 50 μM	>500

図5. 乳酸・グルコース・グルタミン・グルタミン酸の測定レンジ

キーポイント

- ✓ **簡単な測定プロトコル・高価な機器不要** ➡ Add to Measureの簡単なホモジニアスアッセイでルミノメーターで測定可能！
- ✓ **頑強で高感度なアッセイ** ➡ バックグラウンドの低い発光測定で、幅広いレンジでの測定が可能！
- ✓ **様々なサンプルでの応用例** ➡ 培養細胞に加え、組織や体液サンプルの例もあり。もちろんマルチプレックスアッセイにも対応！

参考文献

- Donna Leippe et al. J Biomol Screen 2016 Nov. 1087057116675612.
- A Cacace and P Sonveaux et al. Oncogene, 1-11., 2016

「機器がないから…」 ← **大丈夫です、ご相談ください！**



RentaMAX：ルミノメーター貸出しプログラム
本稿でご紹介した発光法によるエネルギー代謝アッセイはルミノメーター（ルシフェラーゼアッセイでおなじみ発光測定装置）で測定することができます。ルミノメーターを利用できない場合は弊社の GloMax ルミノメーターをお貸しいたします（詳細については www.promega.co.jp/rentamax/ をご覧ください）。プロメガの試薬 & 検出装置の組み合わせで最適なアッセイパフォーマンスが得られます。詳細はお気軽にお問い合わせください。

RentaMAX はプロメガのルミノメーター / 自動精製装置を無償で一定期間お貸しするプログラムで、試薬 / 機器の両面からのサポート・コンサルティングも行います。

代謝アッセイも

プロメガのルミノメーターが最適！

- ✓ **超高感度**
- ✓ **クロストークゼロ**
- ✓ **スーパーワイドダイナミックレンジ**