



AUTOPHAGY

オートファジー

Industry-leading Tools for Analysis
of Autophagic Pathways

オートファジー 背景	2
カーゴ隔離 / ローディング	3
オートファゴソーム形成 / リソソーム融合	4
リソソームの検出	6
アグリソーム&封入体検出	7
パスウェイ 活性化剤・阻害剤	8
記事 ID 検索のご案内	8



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

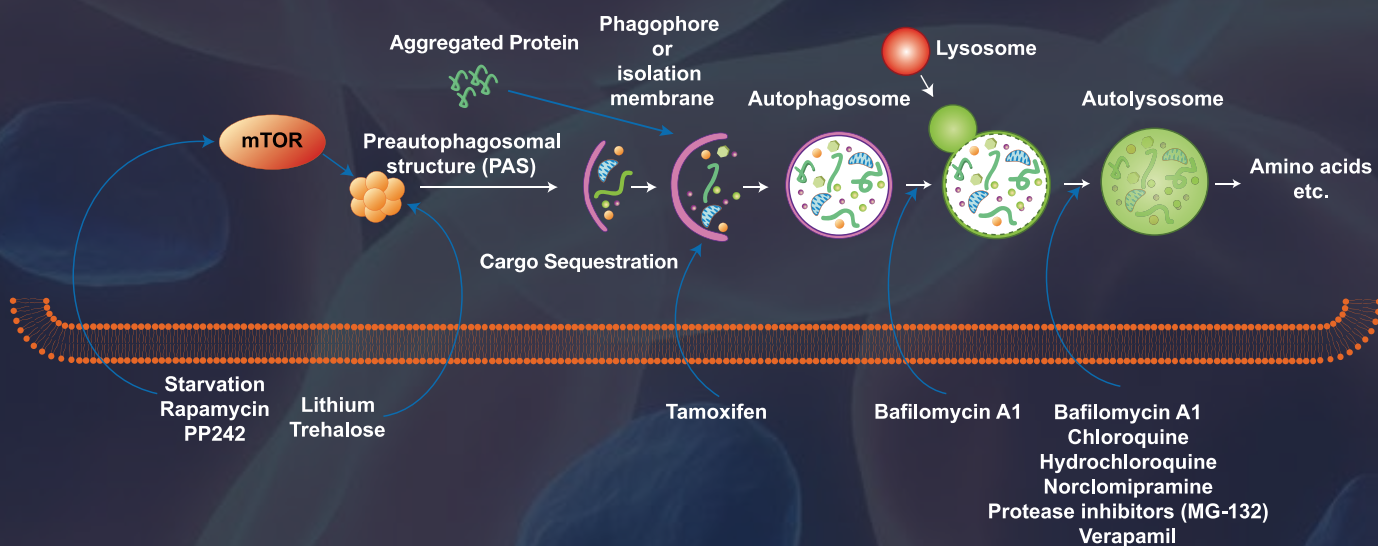
オートファジー

真核細胞は、細胞外養分が制限されて生存を脅かすような状況下にあると、自身の細胞内タンパク質を消化してアミノ酸プールを維持するために、オートファジーと呼ばれるリソソームを介した細胞内バルク分解経路が働き始めます。その他にオートファジーは、特定の細胞内タンパク質濃度の維持、ミスフォールドしたタンパク質や損傷タンパク質の分解に働きます。分解ターゲットはタンパク質凝集体、溶解タンパク質、損傷ミトコンドリア、ペルオキシソーム、細胞内バクテリア、食細胞膜残余物などです。

オートファジー活性は基本条件下では著しく低いですが、様々な生理的条件下（栄養飢餓、低酸素、エネルギー枯渇、小胞体ストレス、温度上昇、高密度成長条件下、ホルモン刺激）に置いたり、またタンパク質凝集症（アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病）、心疾患、急性膵炎のほか細菌感染や寄生虫感染といった場合に顕著にアップレギュレートします。逆に、がんや神経変性疾患、感染症や炎症性腸疾患といったある種の疾患では抑制されています。またオートファジー機能の低下は老化の特徴ともされています。

■ 細胞の生存、細胞死に関わるオートファジー

損傷を受けて、必要がなくなった細胞内構成要素を効果的に隔離・撤去することが細胞生存に重要です。そのため、オートファジーの機能不全は様々な疾患（ガン、神経変性、心不全、細菌感染等）の一因になります。



Find Your Autophagy Solution

■ カーゴ隔離 / ローディング

ELISA によるオートファジーマーカー : p62 & NBR1 の測定

P62

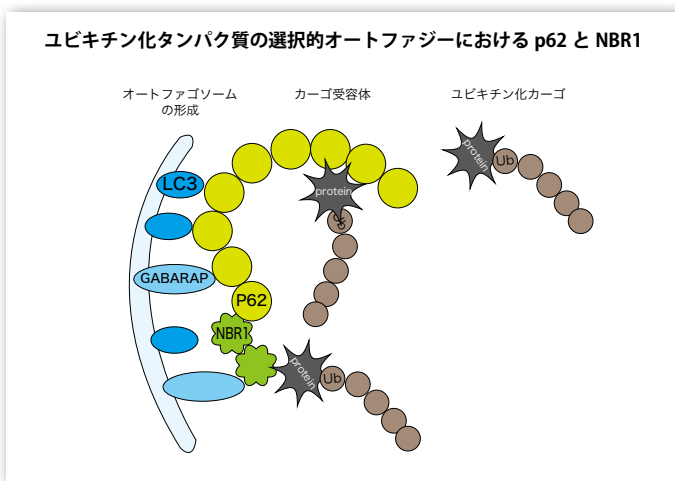
Sequestosome 1 (SQSTM1) としても知られている p62 タンパク質は、オートファジーが阻害されると蓄積し、逆にオートファジーが誘導されるとそのレベルが減少するため、オートファジーフラックスを調査するバイオマーカーとして利用されています。

p62 タンパク質は、足場タンパク質としての役割のほか、タンパク質分解の輸送を助けています。PB1 ドメインを介してポリマー化したり、もしくは NBR1 に結合します。UBA ドメインを介してユビキチン化タンパク質と相互作用したり、LIR モチーフを介して LC3 II へ結合することができます。P62 はユビキチン化タンパク質のオートファジーとユビキチン・プロテアソーム系 (UPS) との間を結びつける鍵であると言われています。他に、パーキンソン病、アルツハイマー病といった神経変性疾患や骨パジェット病の原因因子としても知られており、潜在的治療ターゲットにもなっています。

NBR1

NBR1 (neighbor of BRCA1 gene 1) は 966 アミノ酸長のタンパク質で、UBA ドメインを介してモノ・ポリユビキチン (K63 及び K48- リンク) 結合体と、また LIR ドメインを介して LC3/GABARAP と結合する選択的なオートファジー基質です。NBR1 や p62 はとても似たようなドメイン構成をしており、NBR1 の PB1 ドメインは p62 の PB1 ドメインに結合することができます。両者はとてもよく似ているにもかかわらず独立した機能します。NBR1 はアルコール性脂肪肝患者の Ub 陽性 /p62 陽性マロリー小体で検出されています。そして特定の遺伝性筋疾患やミスフォールドしたタンパク質の蓄積が見られる様々なタンパク質疾患の潜在的バイオマーカーとして利用されています。また出生後の骨形成や p38 MAPK 活性の負の調節でも観察されています。

p62 と NBR1 の類似点 : NBR1 と p62 は相互作用し、オリゴマーを形成するが機能的に独立して働く。



構造

- N 末端側に PB1 (Phox 及び Bem1) ドメインを持つ
- LIR (LC3 作用領域) モチーフを持つ
- C 末端側に UBA (ユビキチン結合) ドメインを持つ

機能

- 足場タンパク質
- タンパク質輸送及び分解を助ける
- オートファジー経路において類似した機能を持つ

p62、NRB1 ELISA キット

記事 ID 検索 **9278**



構成内容

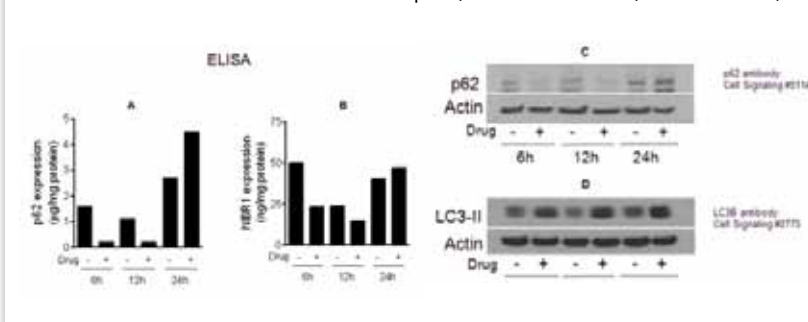
【p62 ELISA キット】

- アッセイバッファー13
- p62 スタンダード
- p62 透明マイクロプレート
- p62 抗体
- HRP 標識二次抗体
- 濃縮洗浄バッファー
- RIPA 細胞溶解バッファー2
- TMB 基質
- 停止液 2
- アッセイレイアウトシート
- プレートシール

【NBR1 ELISA キット】

- アッセイバッファー13
- NBR1 スタンダード
- NBR1 透明マイクロプレート
- HRP 標識 NBR1 抗体
- 濃縮洗浄バッファー
- RIPA 細胞溶解バッファー2
- TMB 基質
- 停止液 2
- アッセイレイアウトシート
- プレートシール

オートファジー誘導に対する p62 (品番 ADI-900-212) および NBR1 (品番 ADI-900-211) 免疫アッセイの相互関係



MDA-MB231 ヒト乳がん細胞をオートファジー誘導薬 withaferin A (WA) で処理したもの (+)、コントロールとして DMSO 処理したもの (-) を用意。その後、6 時間、12 時間、24 時間毎に細胞を採取し、プロテアーゼ阻害剤および DNase を含む RIPA 細胞溶解バッファー2 で溶解した。細胞溶解液を遠心にて浄化した後 p62 アッセイ (図 A)、NBR1 アッセイ (図 B) で解析した。抗原濃度は総細胞内タンパク質でノーマライズされた。細胞溶解液は Cell Signaling 社の抗 p62 抗体、抗 LC3 II 抗体を使って WB 解析した (図 C, D)。両ウェスタンブロットにおけるシグナル強度はアクチンレベルと比較した。予想した通り、6 時間から 12 時間では Withaferin A 応答により p62 及び NBR1 レベルが減少した。24 時間後では薬剤応答が消失し、オートファジー経路が正常に戻り始めた。

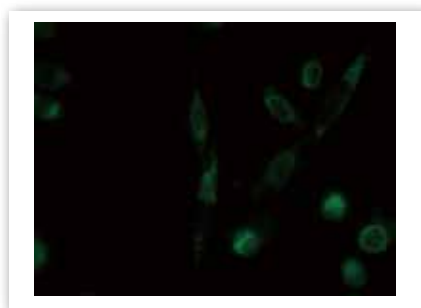
Enzo Life Sciences, Inc.							メーカー略号 : ENZ
品名	交差性	サンプルタイプ	感度	測定範囲	品番	包装	希望販売価格
NBR1 ELISA kit	HU/MS/RAT	細胞ライセート	65.57 pg/mL	125 - 8,000 pg/mL	ADI-900-211-0001	1x96 well	¥96,000
p62 ELISA kit	HU/MS/RAT	細胞ライセート	100 pg/mL	625 - 40,000 pg/mL	ADI-900-212-0001	1x96 well	¥98,000

【交差性】 HU : ヒト MS : マウス RAT : ラット

関連抗体とタンパク質



アルツハイマー患者の海馬の神経に存在する p62 免疫反応性の IHC 解析。神経原線維変化に強く反応が見られる (品番 BML-PW9860 希釈 1:1000)。
Micrograph courtesy of Professor Fred van Leeuwen, University of Maastricht, The Netherlands.



FITC 標識された NBR1 抗体 (品番 BML-PW1130-0025、希釈 1:20) を使って HeLa 細胞中の NBR1 を検出した。HeLa 細胞は解析前にオートファジー阻害剤である bafilomycin (品番 BML-CM110-0100) で前処理済み。

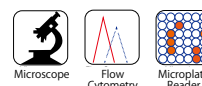
Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

品名	免疫動物	種由来	交差性	適用	品番	包装	希望販売価格
Anti p62 (SQSTM1)	RAB	HU	HU	ELISA/IF/IHC/WB	BML-PW9860-0025	25 µL	¥19,000
					BML-PW9860-0100	100 µL	¥62,000
Anti NBR1	RAB	HU	HU	WB	BML-PW1125-0025	25 µL	¥19,000
					BML-PW1125-0100	100 µL	¥64,000
Anti NBR1 (FITC labeled)	RAB	HU	HU	IC	BML-PW1130-0025	25 µL	¥26,000
p62	-	HU	-	-	ENZ-PRT120-0050	50 µg	¥53,000
NBR1-derived UBA domain	-	-	-	-	BML-UW9445-0500	0.5 mL	¥60,000

【免疫動物・交差性】 HU: ヒト RAB: ウサギ 【適用】 IC: 免疫細胞化学 IF: 免疫蛍光法 IHC: 免疫組織化学 (凍結切片) WB: ウェスタンブロット

■ オートファゴソーム形成 / リソソーム融合

記事 ID 検索 7566



トランスフェクション無しで生細胞のオートファジーを定量



CYTO-ID® オートファジー検出キットは生細胞中のオートファジーをモニターする定量アッセイです。蛍光顕微鏡やフローサイトメトリーに適しており、オートファジーの活性化剤や阻害剤のハイスルットスクリーニングも可能です。本キットには、488 nm で励起する独自の CYTO-ID® Green 検出試薬が含まれており、リソソームの染色は最小限に抑えてプレオートファゴソーム・オートファゴソーム・オートリソソーム (オートファゴリソソーム) を緑蛍光に検出します。

構成内容

- CYTO-ID® Green 検出試薬
- Hoechst 33342 核染色試薬
- オートファジー誘導試薬 (ラバマイシン)
- リソソーム阻害剤 (クロロキニン)
- アッセイバッファー (× 10)

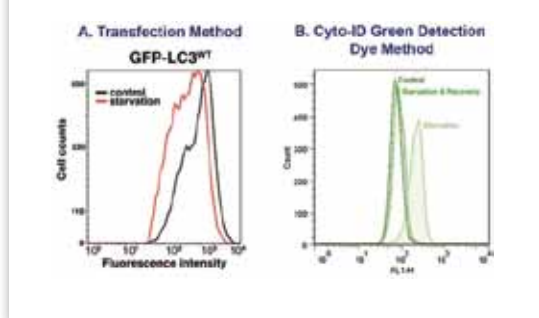
色素のメカニズム

Enzo 社の特許取得済み色素のため詳細は非公開ですが、本色素はカチオン性両親媒性色素 (CAT) で、タンパク質との結合や輸送活性を必要とせず受動的な拡散によって細胞膜の二分子層を通り抜けます。色素の機能部位を精選することで、リソソームへの蓄積を防ぎながら、ファゴソーム形成からオートファゴリソソームまでを特異的に染色します。色素の蛍光放出強度はオートファジー小胞に関わるラメラ膜構造で仕切りが生じた際に増加します。

オートファジー経路に影響を及ぼす多くの小分子モジュレーターでバリデート済み

処理剤	ターゲット	効果	使用量 (µM)	誘導時間 (hrs)	細胞株
Starvation	mTOR の阻害	オートファジー活性	N/A	1 ~ 4	HeLa, HepG2, Jurkat
Rapamycin	mTOR の阻害	オートファジー活性	0.2	6 ~ 18	HeLa, Jurkat
PP242	mTOR の ATP 結合の阻害	オートファジー活性	1	18	HeLa
Lithium	IMPase 阻害及びイノシトールや IP3 レベルを減少; mTOR 非依存	オートファジー活性	10,000	18	HeLa, Jurkat
Trehalose	不明; mTOR 非依存	オートファジー活性	50,000	6	HeLa, Jurkat
Bafilomycin A1	液胞 ATPase の阻害	オートファジー阻害	6 ~ 9x10 ⁻³	18	HeLa, Jurkat
Chloroquine	リソソーム pH をアルカリ化	オートファジー阻害	10 ~ 50	18	HeLa, Jurkat
Tamoxifen	セラミドの細胞内レベルを上昇させ、PI3K の阻害効果を無効化	オートファジー活性	4 ~ 10	6 ~ 18	HeLa, HepG2, Jurkat
Verapamil	Ca ²⁺ チャンネルブロッカー。細胞内の Ca ²⁺ レベルを減少; mTOR 非依存	オートファジー活性	40 ~ 100	18	HeLa, Jurkat
Hydroxy Chloroquine	リソソーム pH をアルカリ化	オートファジー阻害	10	18	HeLa, Jurkat
Loperamide	Ca ²⁺ チャンネルブロッカー。細胞内 - 細胞質中の Ca ²⁺ レベルを減少; mTOR 非依存	オートファジー活性	5	18	HeLa
Clonidine	イミダゾリン-1 受容体アゴニスト。cAMP レベルを減少; mTOR 非依存	オートファジー活性	100	18	HeLa
MG-132	選択的プロテアソーム阻害	オートファジー活性	2 ~ 5	18	HeLa, Jurkat
Norclomipramine	リソソーム pH をアルカリ化	オートファジー阻害	6 ~ 20	18	HeLa
Epoxomicin	選択的プロテアソーム阻害	オートファジー誘導	0.5	18	HeLa
Velcade®	選択的プロテアソーム阻害	オートファジー誘導	0.5	18	HeLa
Amyloid beta peptide 1-42	酸化ストレス誘導	オートファジー誘導	25	18	SK-N-SH

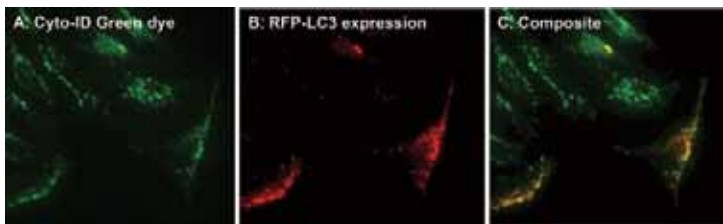
オートファジーと CYTO-ID® の相関性



A: GFP-LC3 安定発現 CHO 細胞ではコントロール対飢餓状態細胞集団を分けることが難しく、オートファジーの定量が困難です。

B: CYTO-ID® オートファジー検出キットでは LC3 非依存性オートファジー小胞を特異的にラベルできるためトランスフェクションの必要がありません。HeLa 細胞を飢餓状態にしたもの、リカバリーさせたものを用意し、その後 Cyto-ID® 検出試薬で標識した。本色素は明確にオートファジーの誘導に直接的に相関があるオートファジー、プレオートファジー小胞の検出、定量を可能にします。

トランスフェクションを必要としないオートファジー小胞の時間節約、迅速的、統括的な標識



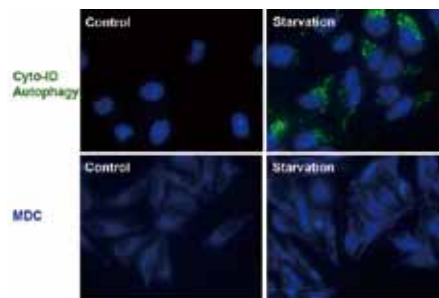
CYTO-ID® Green 検出試薬の利点を明らかにする為、まず HeLa 細胞に RFP-LC3 発現ベクターをトランスフェクトし、一晚、10 μM Tamoxifen 処理をした。その後 CYTO-ID® Green 検出試薬で染色した。一晚を要するトランスフェクションベースアッセイとは異なり、CYTO-ID® Green 検出試薬は 15-30 分間で細胞を 100% 標識することができます。

Panel A : オートファジー小胞の CYTO-ID® Green 染色を示す緑色シグナル

Panel B : トランスフェクションが上手くいった細胞集団の RFP-LC3 発現 (赤色)

Panel C : 合成イメージ、オートファゴソーム特異的のマーカである LC3 と同じ場所に位置する CYTO-ID® Green 染色標識小胞

リソソームへの染色性はごくわずかで高感度



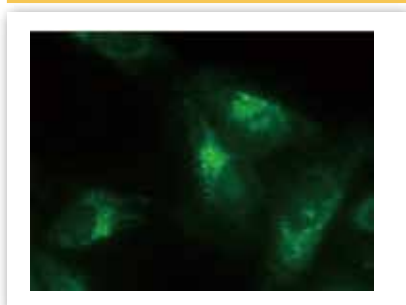
CYTO-ID® 染色は monodansylcadaverine (MDC) を利用するリソソームトロフィック染色ベースアッセイで見られるリソソームの非特異的染色がありません。CYTO-ID® オートファジーキットでは生細胞解析に 350 nmUV レーザーを必要としません。顕微鏡アプリケーションの共標識用に Hoechst 染色の利用が可能です。

品名	品番	Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ	
		包装	希望販売価格
CYTO-ID® Autophagy detection kit	ENZ-51031-0050	50 test	¥37,000
	ENZ-51031-K200	1 kit (200 test)	¥78,000

使用文献

- [1] A rapid and high content assay that measures cyto-ID-stained autophagic compartments and estimates autophagy flux with potential clinical applications: S. Guo, *et al.*; *Autophagy* 11, 560 (2015)
- [2] ABT-888 enhances cytotoxic effects of temozolomide independent of MGMT status in serum free cultured glioma cells: R. K. Balvers, *et al.*; *J. Transl. Med.* 13, 74 (2015)
- [3] Aflatoxin biosynthesis is a novel source of reactive oxygen species-a potential redox signal to initiate resistance to oxidative stress?: L.V. Roze, *et al.*; *Toxins (Basel)*. 7, 1411 (2015)
- [4] Apoptotic Cell Death Induced by Resveratrol Is Partially Mediated by the Autophagy Pathway in Human Ovarian Cancer Cells: F. Lang, *et al.*; *PLoS One* (2015)
- [5] Bardoxolone methyl induces apoptosis and autophagy and inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and stemness in esophageal squamous cancer cells: Y.Y. Wang, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 993 (2015)
- [6] Coffee and caffeine potentiate the antiamyloidogenic activity of melatonin via inhibition of A β oligomerization and modulation of the Tau-mediated pathway in N2a/APP cells: L.F. Zhang, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 241 (2015)
- [7] Evaluation of Antitumor Effects of Folate-Conjugated Methyl- β -cyclodextrin in Melanoma: K. Motoyama, *et al.*; *Biol. Pharm. Bull.* 38, 374 (2015)
- [8] Induction of apoptosis and autophagy via sirtuin1- and PI3K/Akt/mTOR-mediated pathways by plumbagin in human prostate cancer cells: Z.W. Zhou, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 1511 (2015)
- [9] Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Adaptation to Human Keratinocytes: G. Soong, *et al.*; *MBio*. 6, (2015)
- [10] MiR-29b replacement inhibits proteasomes and disrupts aggresome+autophagosome formation to enhance the antimyeloma benefit of bortezomib: S. Jagannathan, *et al.*; *Leukemia* 29, 727 (2015)
- [11] Plumbagin induces G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via p38 MAPK- and PI3K/Akt/mTOR-mediated pathways in human tongue squamous cell carcinoma cells: S. T. Pan, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 1601 (2015)
- [12] Pro-apoptotic and pro-autophagic effects of the Aurora kinase A inhibitor alisertib (MLN8237) on human osteosarcoma U-2 OS and MG-63 cells through the activation of mitochondria-mediated pathway and inhibition of p38 MAPK/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway: N. K. Niu, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 1555 (2015)
- [13] The investigational Aurora kinase A inhibitor alisertib (MLN8237) induces cell cycle G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via p38 MAPK and Akt/mTOR signaling pathways in human breast cancer cells: J. P. Li, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 1627 (2015)
- [14] The pan-inhibitor of Aurora kinases danusertib induces apoptosis and autophagy and suppresses epithelial-to-mesenchymal transition in human breast cancer cells: J.P. Li, *et al.*; *Drug Des. Devel. Ther.* 9, 1027 (2015)

関連抗体とタンパク質



FITC 標識された 2G6 モノクローナル抗体 (品番 BML-PW1205-0025、希釈 1:250) を使って HeLa 細胞中の LC3/GABARAP タンパク質を検出した。HeLa 細胞は解析 12 時間前にプロテアソーム阻害剤である MG-132 (5 μM 品番 BML-P1102) で前処理済み。

品名		免疫動物	種由来	交差性	適用	品番	包装	希望販売価格
Anti LC3, 5H3		MS	HU	HU	WB/IC/IHC	ALX-803-082-C100	100 μg	¥95,000
Anti LC3 (FITC labeled), 2G6		MS	HU	HU	IC	BML-PW1205-0025	25 μL	¥50,000
Anti LC3B, 2G6		MS	HU	HU/MS/RAT/MKY/HAM	WB/IC	ALX-803-081-C100	100 μg	¥95,000
Anti LC3B, 5F10		MS	HU	HU/MS/RAT/CAN/HAM	WB/IC	ALX-803-080-C100	100 μg	¥95,000
LC3B		-	HU	-	-	BML-UW1155-0500	500 μg	¥33,000
LC3-I		-	HU	-	-	ADI-APR-100-0050	50 μg	¥39,000
						ADI-APR-100-0200	200 μg	¥84,000

【免疫動物・種由来・交差性】 CAN : イヌ HAM : ハムスター HU : ヒト MKY : サル MS : マウス RAT : ラット
 【適用】 IC : 免疫細胞化学 IHC : 免疫組織化学 (凍結切片) WB : ウェスタンブロット

Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

■ リンゾームの検出

記事 ID 検索 7562



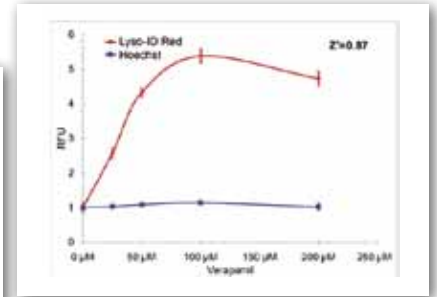
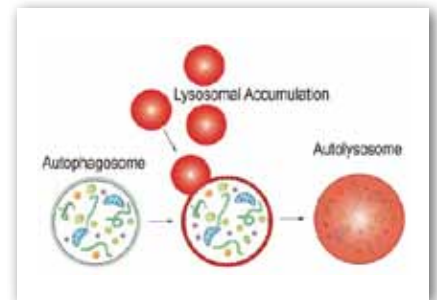
薬剤、毒物誘導リンゾームやリンゾーム様オルガネラの障害を生細胞で測定



構成内容

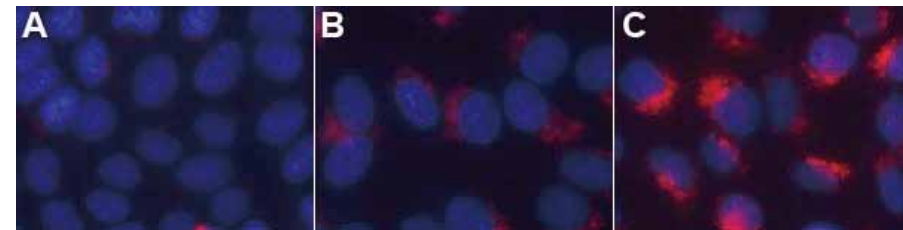
- デュアルカラー検出試薬
- 検出バッファー
- ベラパミルコントロール
- アッセイバッファー (× 10)

LYSO-ID® Red 細胞毒性キットは、細胞中のリンゾームやリンゾーム様オルガネラを赤色蛍光で染色するカチオン性両親媒性色素 (CAT) を使用しています。プレートリーダーで測定するセルベースアッセイですが、蛍光顕微鏡観察も可能です。従来のリンゾーム染色とは異なり、カチオン性両親媒性薬剤であるクロロキンやベラパミルなどで誘導されるリン脂質症を効果的に検出します。下流のリンゾーム経路をブロック、あるいはオートファゴソームの細胞内輸送をブロックするような試薬の影響をオートファゴソームの蓄積 = 赤色蛍光シグナルの増加から測定することができます。



U-2 OS 細胞の EC50 を評価した。本アッセイを用いて得られた高い Z'-factor (0.87 / 100 μM verapamil) は、優れた S/N 比を示す。

薬剤誘導型リン脂質症に起因する異常なリンゾーム蓄積のモニター



未処理の U-2 OS 細胞 (A)、クロルプロマジン処理細胞 (28 μM) (B)、ベラパミル処理細胞 (200 μM) (C) の蛍光顕微鏡画像。これら 2 種類の化合物は、カチオン性両親媒性で、リンゾーム内でリン脂質の異常な蓄積を誘導することで知られていて、結果として層状体を示す。リン脂質症を誘導する薬剤で処理した U-2 OS 細胞はリンゾーム数や量が増加し、赤色蛍光として観察される。核は Hoechst 33342 で対比染色した (青色)。

Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

品名	品番	包装	希望販売価格
LYSO-ID® Red cytotoxicity kit (GFP-CERTIFIED®) for microplates	ENZ-51015-KP002	1 kit (2 x 96-well plates)	¥60,000

使用文献

- [1] SerpinB2 (PAI-2) modulates proteostasis via binding misfolded proteins and promotion of cytoprotective inclusion formation: J.A. Lee, et al.; *PLoS One* 10, e0130136 (2015)
- [2] Involvement of interleukin-1 β in the autophagic process of microglia: relevance to Alzheimer's disease: A. François, et al.; *J. Neuroinflammation* 10, 151 (2013)
- [3] The full-of-bacteria gene is required for phagosome maturation during immune defense in Drosophila: M.A. Akbar, et al.; *J. Cell Biol.* 192 (3), 383 (2011)

関連商品

Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

品名	使用目的	構成内容	品番	包装	希望販売価格
LYSO-ID® Red detection kit (GFP-CERTIFIED®) for microscopy	GFP 発現株でオルガネラ特異的プロンプ (赤色) を用いて蛍光顕微鏡でモニタリングします。	<ul style="list-style-type: none"> Lyso-ID® Red 検出試薬 Hoechst 33342 核染色試薬 クロロキン コントロール アッセイバッファー (× 10) 	ENZ-51005-0100	100 test	¥14,000
			ENZ-51005-500	1 kit (500 test)	¥44,000
LYSO-ID® Green detection kit for microscopy	RFP 発現株でオルガネラ特異的プロンプ (緑色) を用いて蛍光顕微鏡でモニタリングします。	<ul style="list-style-type: none"> Lyso-ID® Green 検出試薬 Hoechst 33342 核染色試薬 クロロキン コントロール アッセイバッファー (× 10) 	ENZ-51034-0100	100 test	¥14,000
			ENZ-51034-K500	1 kit (500 test)	¥42,000

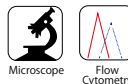
使用文献

▶ Lyso-ID® Red detection kit

- [1] Clathrin-dependent endocytosis of claudin-2 by DFYSP peptide causes lysosomal damage in lung adenocarcinoma A549 cells: A. Ikari, et al.; *Biochim. Biophys. Acta* (2015)
- [2] Intracellular calcium levels as screening tool for nanoparticle toxicity: C. Meindl, et al.; *J. Appl. Toxicol.* (2015)
- [3] SerpinB2 (PAI-2) Modulates Proteostasis via Binding Misfolded Proteins and Promotion of Cytoprotective Inclusion Formation: J.A. Lee, et al.; *PLoS One* 10, e0130136 (2015)
- [4] Threonine 56 phosphorylation of Bcl-2 is required for LRRK2 G2019S-induced mitochondrial depolarization and autophagy: Y.C. Su, et al.; *Biochim. Biophys. Acta* 1852, 12 (2015)
- [5] Chromosome 19 open reading frame 80 is upregulated by thyroid hormone and modulates autophagy and lipid metabolism: Y.H. Tseng, et al.; *Autophagy* 10, 20 (2014)
- [6] Macrophages eliminate circulating tumor cells after monoclonal antibody therapy: N. Gül, et al.; *J. Clin. Invest.* 124, 812 (2014)
- [7] p38 signaling inhibits mTORC1-independent autophagy in senescent human CD8⁺ T cells: S.M. Henson, et al.; *J. Clin. Invest.* 124, 4004 (2014)
- [8] The c10orf10 gene product is a new link between oxidative stress and autophagy: M.W. Stepp, et al.; *Biochim. Biophys. Acta* 1843, 1076 (2014)

▶ Lyso-ID® Green detection kit

- [1] A cancer cell-activatable aptamer-reporter system for one-step assay of circulating tumor cells: Z. Zeng, et al.; *Mol. Ther. Nucleic Acids* 3, e184 (2014)
- [2] Ambroxol improves lysosomal biochemistry in glucocerebrosidase mutation-linked Parkinson disease cells: A. McNeill, et al.; *Brain* 137, 1481 (2014)
- [3] Inhibition of beclin1 affects the chemotherapeutic sensitivity of osteosarcoma: W. Wu, et al.; *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 7, 7114 (2014)
- [4] Multifluorescence live analysis of herpes simplex virus type-1 replication: M. Seyffert, et al.; *Methods Mol. Biol.* 1144, 235 (2014)



アグリソームやアグリソーム様凝集体をフローサイトメトリーやイメージングで解析

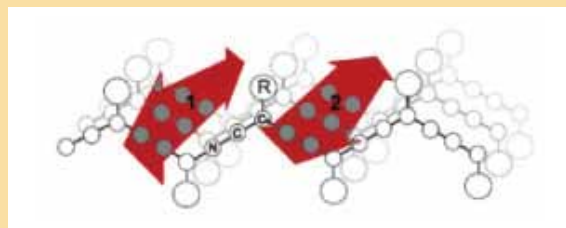


構成内容

- PROTEOSTAT® アグリソーム検出試薬
- Hoechst 33342 核染色試薬
- プロテアソーム阻害剤 (MG-132)
- アッセイバッファー (× 10)

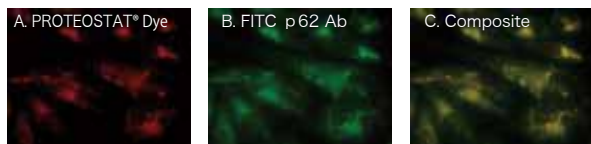
PROTEOSTAT® アグリソーム検出キットには、488 nm で励起する赤色蛍光分子ローター色素が含まれており、固定細胞や透過処理済み細胞のアグリソームやアグリソーム様封入体内に存在する変性カーゴタンパク質を特異的に検出します。検出試薬はアグリソーム形成中に生産された小胞内の凝集タンパク質と結合することで強く蛍光を発します。そしてオートファジー、プロテアソーム経路の様々な条件下でバリデートされています。キットにはプロテアソーム阻害剤である MG-132 がポジティブコントロールとして、また核の対比染色試薬も入っています。

PROTEOSTAT® 検出試薬の構造



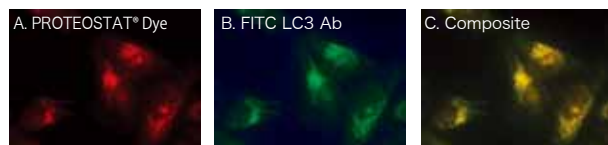
PROTEOSTAT® タンパク質凝集検出試薬は分子ローター色素で、タンパク質凝集がない場合プロペラのように回転して蛍光を発しません。色素が凝集体に結合して固定されると、回転運動が遅くなり、蛍光を発します。

FITC 標識 p62 抗体と同じ箇所に着する PROTEOSTAT® 試薬



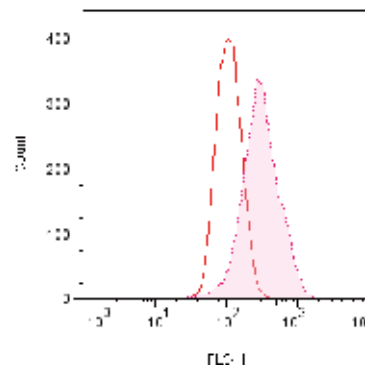
HeLa 細胞を MG-132 で処理 (5 μM, 12 時間) し、PROTEOSTAT® アグリソーム検出試薬によりアグリソームを検出 (A)。FITC 標識 p 62 抗体による染色図 (B) と合成 (C) すると、同じ位置に着することが分かる。

FITC 標識 LC3 抗体と同じ箇所に着する PROTEOSTAT® 試薬



HeLa 細胞を MG-132 で処理 (5 μM, 12 時間) し、PROTEOSTAT® アグリソーム検出試薬によりアグリソームを検出 (A)。FITC 標識 LC3 I / II 抗体による染色図 (B) と合成 (C) すると、同じ位置に着することが分かる。

フローサイトメトリーによるアグリソーム解析



Jurkat 細胞を 37°C で一晩、MG-132 処理 (5 μM) したものを、コントロール (0.2%) DMSO 処理したものをを用意した。固定後、ProteoStat® を加えインキュベートしてからフローサイトメトリー解析をした。結果をヒストグラムで示した。MG-132 処理細胞では、赤色蛍光シグナルが約 3 倍増加した。

品名	品番	包装	希望販売価格
PROTEOSTAT® Aggresome detection kit for flow cytometry and fluorescence microscopy	ENZ-51035-0025	1 kit (25 flow cytometry assays or 50 microscopy assays)	¥19,000
	ENZ-51035-K100	1 kit (100 flow cytometry assays or 200 microscopy assays)	¥53,000

使用文献

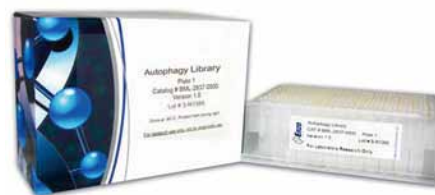
- [1] Amyloidogenic lysozymes accumulate in the endoplasmic reticulum accompanied by the augmentation of ER stress signals: Y. Kamada, et al.; *Biochim. Biophys. Acta.* (2015)
- [2] Conophylline protects cells in cellular models of neurodegenerative diseases by inducing mammalian target of rapamycin (mTOR)-independent autophagy: Y. Sasazawa, et al.; *J. Biol. Chem.* 290, 6168 (2015)
- [3] Decreased proteasomal function accelerates cigarette smoke-induced pulmonary emphysema in mice: Y. Yamada, et al.; *Lab. Invest.* 95, 625 (2015)
- [4] *In vitro* administration of gold nanoparticles functionalized with MUC-1 protein fragment generates anticancer vaccine response via macrophage activation and polarization mechanism: T. Mocan, et al.; *J. Cancer* 6, 583 (2015)
- [5] Intensified autophagy compromises the efficacy of radiotherapy against prostate cancer: M. I. Koukourakis, et al.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2015)
- [6] MIR-29b replacement inhibits proteasomes and disrupts aggresome+autophagosome formation to enhance the antimyeloma benefit of bortezomib: S. Jagannathan, et al.; *Leukemia* 29, 727 (2015)
- [7] Pressure overload-induced cardiac dysfunction in aged male adiponectin knockout mice is associated with autophagy deficiency: J. Won Suk Jahng, et al.; *Endocrinology* (2015)
- [8] Protein kinase C-dependent growth-associated protein 43 phosphorylation regulates gephyrin aggregation at developing GABAergic synapses: C.Y. Wang, et al.; *Mol. Cell. Biol.* 35, 1712 (2015)
- [9] Schwann cells contribute to neurodegeneration in transthyretin amyloidosis: T. Murakami, et al.; *J. Neurochem.* (2015)
- [10] Cationic polystyrene nanospheres induce autophagic cell death through the induction of endoplasmic reticulum stress: H.W. Chiu, et al.; *Nanoscale* 7, 736 (2014)

■ パスウェイ 活性化剤・阻害剤

記事 ID 検索 12110

小分子アクチベーター & インヒビターでオートファジーモジュレーターをスクリーニング

SCREEN-WELL® オートファジーライブラリは *in vitro* スクリーニングアッセイを使ってプロオートファジー、アンチオートファジー分子の機能研究に便利なツールです。このユニークなコレクションには約 90 種類の化合物が 96 well プレートに分注されています。また個別に化合物を購入することもできます。



Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

品名	品番	包装	希望販売価格
SCREEN-WELL® Autophagy Library	BML-2837C-0100	100 μ L/well	ご照会
	BML-2837C-0500	500 μ L/well	ご照会

本商品は事前お見積りが必要な商品です。お見積りにあたって注意事項がいくつかございますのでお見積り依頼書に添付してある注意事項をご一読いただきますようお願い申し上げます。
見積り依頼書の URL http://www.cosmobio.co.jp/ENZ_CL_Q

Enzo Life Sciences, Inc. メーカー略号: ENZ

品名	ターゲット	効果	品番	包装	希望販売価格
Bafilomycin A1	液胞 ATPase の阻害	オートファジー阻害	BML-CM110-0100	100 μ g	¥30,000
Loperamide, hydrochloride	Ca ²⁺ チャンネルブロッカー; 細胞内-細胞質中の Ca ²⁺ レベルを減少; mTOR- 非依存	オートファジー活性	ALX-550-253-G005	5 g	¥8,900
MG-132	選択的プロテアソーム阻害剤	オートファジー活性	BML-PI102-0005	5 mg	¥9,800
			BML-PI102-0025	25 mg	¥33,000
Rapamycin	mTOR を阻害	オートファジー活性	BML-A275-0005	5 mg	¥33,000
			BML-A275-0025	25 mg	¥84,000
Tamoxifen Citrate	セラミドの細胞内レベルを上昇させ、PI3K の阻害効果を無効にする。	オートファジー活性	ALX-550-095-G001	1 g	¥20,000
(±)-Verapamil . Hydrochloride	Ca ²⁺ チャンネルブロッカー; 細胞内-細胞質中の Ca ²⁺ レベルを減少; mTOR- 非依存	オートファジー活性	ALX-550-306-G001	1 g	¥6,000
			ALX-550-306-G005	5 g	¥17,000

Detail on the Web ▶▶▶

詳細な技術情報あります！

記事 ID 検索 ●●●●

詳しい情報はコスモ・バイオ Web サイトへ
コスモ・バイオホームページのサイト内検索エンジン「記事 ID 検索」に、各商品のページ ID (例: 左記のアイコンの数字) を入力してください。ダイレクトにページへ行くことができます。

お願い および 注意事項

- 希望販売価格 … 「希望販売価格」は参考であり、販売店様からの販売価格ではございません。
記載の希望販売価格は 2015 年 10 月 1 日現在の希望販売価格です。
予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認下さい。消費税は含まれておりません。
- 使用範囲 … 記載の商品は全て、「研究用試薬」です。
人や動物の医療用・臨床診断用・食品用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。

記載の社名・商品名等の名称は、弊社もしくは各社の商標または登録商標です。

取扱店



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

- 営業部 (お問い合わせ)
TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620

(12361)