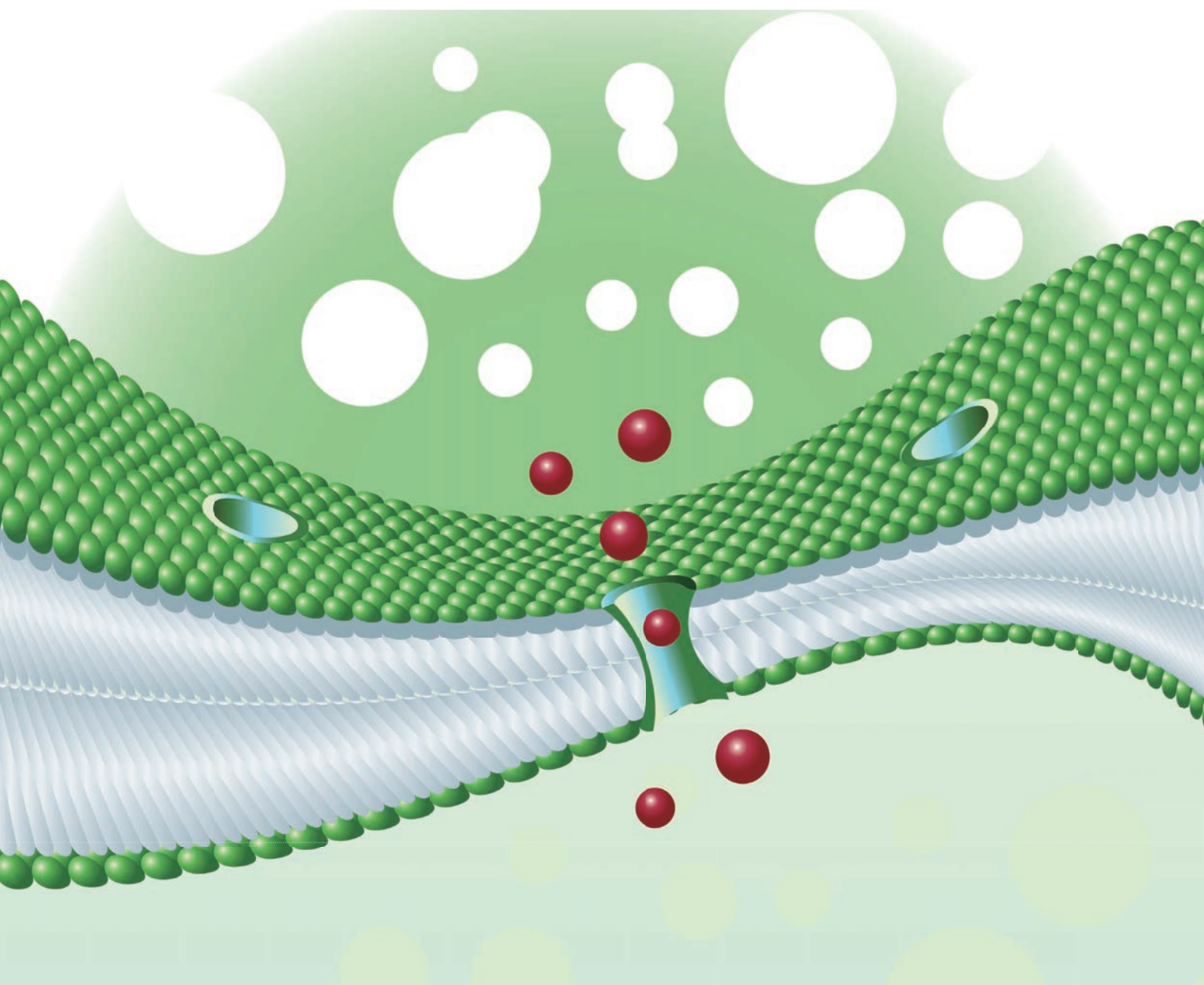


カルシウム検出プローブ & アッセイキットカタログ



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社



Our Mission

AAT Bioquest® 社では、一貫して高品質の製品とサービスを提供し、長期的、日常的な業務の継続改善に努めることによって、お客様の要求を常に満たすこと、上回ることを約束します。私たちの本質的価値はイノベーションとお客様満足です。

Our Story

AAT Bioquest®, Inc. (formerly ABD Bioquest, Inc.) develops, manufactures and markets bioanalytical research reagents and kits to life sciences research, diagnostic R&D and drug discovery. We specialize in photometric detections including absorption (color), fluorescence and luminescence technologies. The Company's superior products enable life science researchers to better understand biochemistry, immunology, cell biology and molecular biology. AAT Bioquest offers a rapidly expanding list of enabling products. Besides the standard catalog products, we also offer custom services to meet the distinct needs of each customer. Our current services include custom synthesis of biological detection probes, custom development of biochemical, cell-based and diagnostic assays and custom high throughput screening of drug discovery targets.

It is my greatest pleasure to welcome you to AAT Bioquest. We greatly appreciate the constant support of our valuable customers. While we continue to rapidly expand, our core value remains the same: Innovation and Customer Satisfaction. We are committed to being the leading provider of novel biological detection solutions. We promise to extend these values to you during the course of our service and to continue to support you with our new products and services. It is our greatest honor to receive valuable feedbacks and suggestions from you so that we can better serve your projects.

Very truly yours,



Zhenjun Diwu, Ph.D.
President

目次

Non-Fluorescent Calcium Signaling Molecules & Chelators.....	2
<i>NAADP</i>	
<i>NAADP-AM</i>	
<i>Fluorimetric cADP-Ribose Assay</i>	
<i>BAPTA AM</i>	
<i>EGTA AM</i>	
<i>Pluronic® F-127</i>	
<i>Probenecid</i>	
Fluorescent Single Wavelength Calcium Indicators.....	5
<i>Classic Single Wavelength Fluorescent Calcium Indicators</i>	
Blue-Green Fluorescent Calcium Indicators	6
<i>Cal-500™</i>	
Green Fluorescent Calcium Indicators.....	7
<i>Traditional Green Fluorescent Calcium Indicators</i>	
<i>Fluo-4</i>	
<i>Fluo-8® Calcium Indicators</i>	
<i>Cal-520® Calcium Indicators</i>	
<i>Calbryte™ 520 Calcium Indicators</i>	
Red Fluorescent Calcium Indicators	11
<i>Cal-590™ Calcium Indicators</i>	
<i>Calbryte™ 590 Calcium Indicators</i>	
<i>Cal-630™ Calcium Indicators</i>	
<i>Calbryte™ 630 Calcium Indicators</i>	
<i>Rhod-4™ Calcium Indicators</i>	
NIR Fluorescent Calcium Indicators.....	15
<i>Cal-670™ Calcium Indicators</i>	
<i>Cal-770™ Calcium Indicators</i>	
Fluorescent Ratiometric Calcium Indicators	17
<i>BTC</i>	
<i>Fura-2</i>	
<i>Fura-8™</i>	
<i>Indo-1</i>	
<i>Cal Red™ R525/650</i>	
Luminescent Calcium Indicators	19
<i>Luminescent Calcium Indicators</i>	
<i>Screen Quest™ Luminometric Calcium Assay Kit</i>	
Live Cell Calcium Assays.....	21
FLIPR Calcium Assays	21
<i>Screen Quest™ Fluo-8 No Wash Calcium Assay Kit</i>	
<i>Screen Quest™ Calbryte-520 Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit</i>	
<i>Screen Quest™ Calbryte-590 Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit</i>	
<i>Screen Quest™ Rhod-4 NW Calcium Assay Kit</i>	
<i>Screen Quest™ Fura-2 No Wash Calcium Assay Kit</i>	
Endpoint Calcium Assay.....	24
<i>Cell Meter™ No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit</i>	
Flow Cytometric Calcium Assay	24
<i>Cell Meter™ Flow Cytometric Calcium Assay Kit</i>	
GPCR Cell Lines for Calcium Assays	25
Live Cell cAMP assay	25
cAMP & Phosphodiesterase (PDE) Assays.....	27
cAMP Assays	27
<i>Screen Quest™ ELISA cAMP Assay</i>	
<i>Screen Quest™ TR-FRET No Wash cAMP Assay Kit</i>	
Phosphodiesterase (PDE) Assay	28
Measurement of Calcium <i>In Vitro</i>.....	29
<i>Amplite™ Calcium Assay</i>	

Non-Fluorescent Calcium Signaling Molecules & Chelators

カルシウムイオン (Ca^{2+}) は、シグナル伝達をはじめ、タンパク質の立体構造変化、細胞質やオルガネラによる Ca^{2+} レベルの制御、 Ca^{2+} の細胞内における高度な局在化、細胞の興奮、遊走、エキソサイトーシス、アポトーシス、および転写におけるその特異的役割など、細胞活動のほぼ全てに影響を及ぼします。 Ca^{2+} 指示薬の細胞内較正は、イオノフォアを用いた細胞内 Ca^{2+} レベルの操作や、細胞を界面活性剤で溶解させ既知の Ca^{2+} 濃度を含んだ培地に Ca^{2+} 指示薬を放出させることによって行うことができます。

AAT Bioquest® 社では、蛍光や発光カルシウム検出試薬の他に細胞内外の Ca^{2+} 測定や操作を行う非蛍光性化合物を複数提供しています。

NAADP

ニコチン酸アデニンジヌクレオチドリン酸 (NAADP、品番：20999) はカルシウムシグナル伝達経路の主要なセカンドメッセンジャーです。NAADP は、cADPR やイノシトール三リン酸 (IP_3) と機能的に異なり、カルシウムを ER から動員しません。むしろ、近年発見された細胞質全体に局在する酸性カルシウムストアからカルシウムを動員します。この酸性カルシウムストアには、エンドソーム、リソソーム、分泌顆粒、およびゴルジ体といった細胞内区画が含まれます。近年の研究から、NAADP はカルシウム放出を刺激するために二孔チャンネル (TPC) とよばれる膜結合イオンチャンネルファミリーを標的にすることが示唆されています。

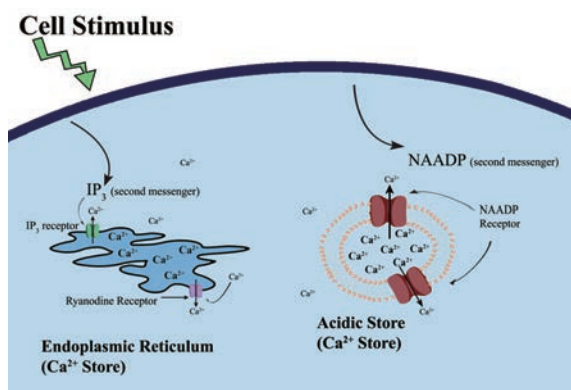


図 1.1 イノシトール三リン酸および NAADP における Ca^{2+} 流入機序

イノシトール三リン酸 (IP_3) と NAADP は、細胞への化学的刺激を伝達するセカンドメッセンジャー分子である。 IP_3 は IP_3 リガンド開口型 Ca^{2+} チャンネルに結合し、小胞体から細胞質への Ca^{2+} の流入を引き起こす。NAADP は酸性のストアから細胞質基質への Ca^{2+} 流入を惹起する。

1987 年に NAADP が見つかったから 1995 年に至るまでその構造は決定されていませんでした。NAADP は近年、脾臓、心臓および神経系に影響を及ぼす様々な疾患の薬物学的標的として非常に注目されています。NAADP を用いた実験より、イノシトール三リン酸 (IP_3) といった他の細胞経路の調節因子と同様に、極めて強力なカルシウム動員物質であることが示されています。

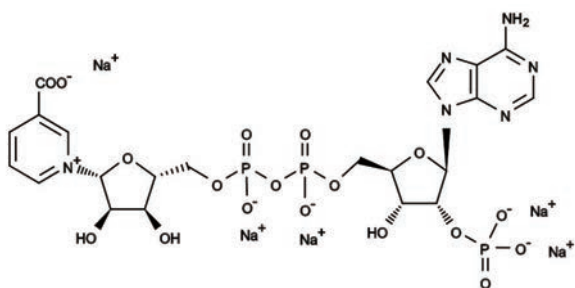


図 1.2 NAADP (品番：20999) の化学構造

NAADP-AM

NAADP が急速に注目され、NAADP 研究に向けたよりよいツール探索が始まっています。近年では NED-19 と NAADP-AM (品番：20997) という 2 種類の化合物の開発により研究プロセスが著しく盛んになっています。NED-19 は NAADP アンタゴニストであり、当初は NAADP アナログのバーチャル化合物スクリーニングを介して開発されました。

本物質は、NAADP 介在性 Ca^{2+} 応答と NAADP 結合の両方を特異的に遮断します。

NAADP 研究の 2 番目に重要な開発は、細胞透過性 NAADP アナログである NAADP-AM の合成が挙げられます。開発以前は、NAADP の細胞導入方法としてマイクロインジェクション法やエレクトロポレーションといった侵襲性の細胞技術を使用する必要がありました。これらの手法には、いくつか問題があることが指摘されています。少なくとも、細胞膜の破壊により、正常細胞内機能が崩壊します。マイクロインジェクションの場合、単一細胞に限定されることから、そのプロセスに非常に時間を要します。エレクトロポレーションの場合、一般的な問題として導入効率の低さや高頻度での細胞死が挙げられます。

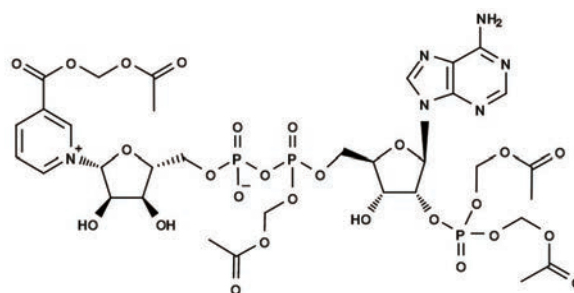


図 1.3 NAADP-AM (品番：20997) の化学構造

アセトキシメチルエステル (AM エステル) の利用により、従来の導入技術で直面した数々の問題点を解決することができます。NAADP の場合、細胞内によく保持されるものの、負に帯電していることから細胞膜を透過させることは特に困難です。しかし、AM エステルを化学的に付与することで、負電荷が無くなるだけでなく疎水性になります。この化学特性の変化により NAADP-AM は細胞のリン脂質膜を容易に通過できるようになります。一旦細胞内に入ると、AM エステルは細胞内エステラーゼにより切断され、化合物は元の NAADP に戻ります。このようにして、侵襲性細胞技術を用いることなく、AM エステルを利用することで NAADP を容易に細胞集団へと導入することができます。

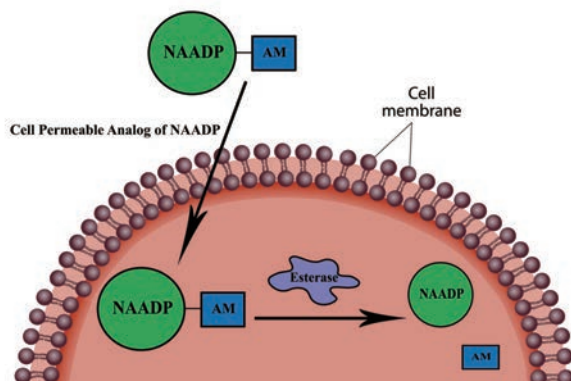


図 1.4 NAADP-AM の作用機序

NAADP-AM (品番: 20997) は細胞透過性 NAADP アナログである。NAADP-AM は細胞の細胞質基質へと取り込まれ、エステラーゼ酵素により加水分解を受ける。セカンドメッセンジャーである NAADP の流入により、NAADP 介在性カルシウムシグナル伝達が誘導される。

Fluorimetric cADP-Ribose Assay

cADP-リボース (cADPR) は、 NAD^+ 由来の Ca^{2+} メッセンジャーです。ADP-リボシルシクラーゼ (ADPRC) は、 NAD^+ からの cADPR 合成を触媒するものの、高濃度のニコチンアミド存在下では可逆的であり、化学量論的に cADPR から NAD^+ を産生します。産生された NAD^+ は、AAT Bioquest® 社の新開発 NAD センサーである Quest Fluor™ NAD 試薬により検出することが可能です。このアッセイでは、組織や細胞培養液中の cADPR を低 nM レベルでモニタリングすることができます。

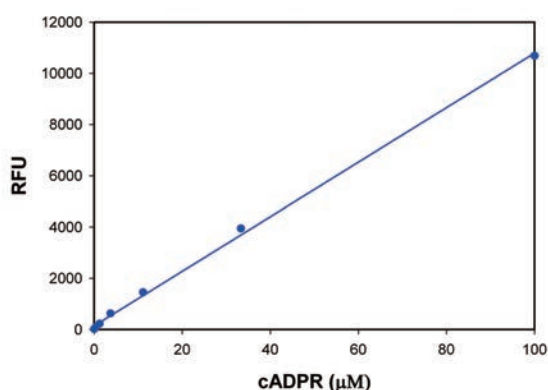


図 1.5 Amplitude™ Fluorimetric cADP-Ribose Assay Kit (品番: 20305) による cADPR 濃度の検出
種々の濃度の cADPR を ADPRC 反応混合溶液と 1 時間、室温で培養し、NAD 検出試薬を添加した。検出できた cADPR の最低濃度は 100 nM であった。

Quest Fluor™ NAD 試薬による NAD^+ の検出は NAD^+ 特異的であり、NADH には反応しません。蛍光シグナルは $\text{Ex} / \text{Em} = 420 / 480 \text{ nm}$ で容易に検出できます。このアッセイは、96 well または 384 well マイクロタイタープレートフォーマットで簡便に行うことができます。

BAPTA AM

BAPTA (1,2-bis(oaminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid) は、カルシウム特異的アミノポリカルボキシル酸で、4 つのカルボキシ基が存在することから、2 つのカルシウムイオンに結合できます。カルシウムと他の金属イオンの配位にはカルボン酸リガンドの自由度が高いことが必須です。

BAPTA AM (品番: 21002) は、BAPTA の細胞透過性を高めたバージョンであり、細胞透過性カルシウムキレート剤です。本製品は細胞や組織におけるカルシウム濃度の調整に使われます。

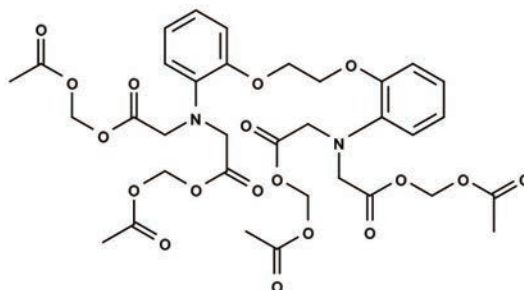


図 1.6 BAPTA AM (品番: 21002) の化学構造

EGTA AM

EGTA (エチレンジアミン四酢酸) は、キレート剤であるアミノポリカルボキシル酸です。EDTA と比べ、EGTA はマグネシウムに対する親和性が低く、カルシウムイオンへの選択性がより高くなります。生体環境に類似した組成のバッファーへの使用に有用です。四塩基性 EGTA のカルシウムイオン結合における pK_a は 11.00 ですが、プロトン化した形態では顕著な結合は行われず、pH 7 において、見かけ上の pK_a は 6.91 になります。

EGTA AM (品番: 21005) は、EGTA の細胞透過性を高めたバージョンであり、細胞透過性カルシウムキレート剤です。この EGTA 誘導体は細胞や組織におけるカルシウム濃度の調整に使われます。

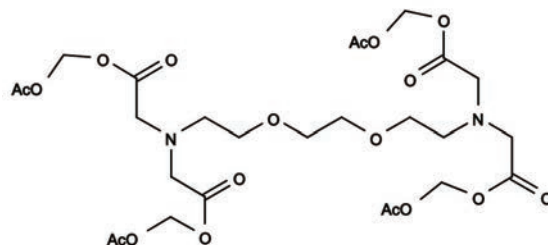


図 1.7 EGTA AM (品番: 21005) の化学構造

Pluronic® F-127

Pluronic® F-127 (品番：20050) は、比較的毒性の低い非イオン性界面活性剤であり、しばしば Indo-1 AM、Fura-2 AM、Calcein AM、Fluo-3 AM、Fluo-4 AM、Fluo-8® AM、Cal-520™、Calbryte™ 520 および Rhod-4™ AM といった AM エステル指示薬とともに、これらの水溶性を改善する目的で使用されます。また、他の親油性プローブの分散にも有用です。使用に当たっては、Pluronic® F-127 が細胞の膜特性を変えていないことを確認するための適切なコントロールが必要です。

Probenecid

Probenecid (品番：20060) は、細胞膜に局在する有機アニオントランスポーターの阻害剤です。これらのトランスポーターは、しばしば蛍光指示薬を細胞から排出するため、細胞内の色素保持が悪くなります。Probenecid でトランスポーターの活性を阻害し、細胞内蛍光指示薬の漏出を低減する方法は、カルシウムアッセイにおいて蛍光バックグラウンドを減らす手法として一般的です。Probenecid の遊離酸形態は中性の水に対する水溶性が低いため、1 M NaOH を用いて溶解する必要があります。AAT Bioquest® 社では、便利な水溶性の ReadUse™ Probenecid (品番：20061：固体、品番：20062：液体) を提供しています。

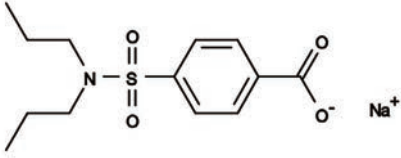


図 1.8 ReadUse™ Probenecid (品番：20062) の化学構造

品名	品番	包装	希望販売価格
Amplite™ Fluorimetric cADP-Ribose Assay Kit	20305	100 tests	¥104,000
BAPTA, AM	21001	25 mg	¥16,000
BAPTA, AM *UltraPure Grade*	21002	25 mg	¥20,000
BAPTA, tetrapotassium salt	21003	100 mg	¥16,000
BAPTA, tetrasodium salt	21004	100 mg	¥16,000
EGTA AM	21005	10 mg	¥30,000
EGTA AM *10 mM DMSO solution*	21006	1 ml	¥30,000
EGTA tetrasodium salt *10 mM aqueous solution*	21008	10 ml	¥16,000
EGTA tetrasodium salt	21007	1 g	¥16,000
NAADP [Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate sodium salt]	20999	1 mg	¥20,000
NAADP-AM	20997	2×50 µg	¥62,000
	20998	250 µg	¥83,000
Pluronic® F-127 *10% solution in water*	20053	10 ml	¥16,000
Pluronic® F-127 *20% solution in DMSO*	20052	10 ml	¥16,000
Pluronic® F-127 *Cell culture tested *	20050	10 g	¥16,000
Probenecid *Cell culture tested*	20060	10×72 mg	¥16,000
ReadUse™ probenecid *25 mM stabilized aqueous solution*	20062	10×10 ml	¥30,000
ReadUse™ probenecid, sodium salt *Water-soluble*	20061	10×77 mg	¥30,000

Fluorescent Single Wavelength Calcium Indicators

カルシウムは様々な細胞で普遍的なセカンドメッセンジャーとして働きます。無数の機能が Ca^{2+} により制御されているため、カルシウム指示薬を用いたカルシウム測定は生物学的調査に不可欠となっています。1920年代から Ca^{2+} の測定が試みられ多様な指示薬が開発されてきました。蛍光指示薬を用いることで、細胞内の遊離 Ca^{2+} 濃度の変化を各種機器（蛍光顕微鏡、フローサイトメトリー、蛍光分光法および蛍光マイクロプレートリーダー）から確認することができます。これら蛍光指示薬のほとんどが、カルシウムに応答する PET 機構（光誘起電子移動）を組み込んだ BAPTA キレーター誘導体です。蛍光指示薬を選択する際は、ご自身の実験に適したスペクトル特性、測定モード、透過性（AM フォーム：生細胞中のアッセイに適した細胞透過性タイプ、塩フォーム：生細胞や組織へのマイクロインジェクションに適したタイプ）、解離定数 (K_d) を選択してください。

スペクトル特性：

UV 励起用には、Indo-1 と Fura-2 が広く使用されています。

Fura-8™ は新しく開発された励起を比率化できるカルシウム色素です。その AM 体は Fura-2 AM より優れ、細胞内で高いシグナル / バックグラウンド比率を示します。

Fluo-8®, Cal-520®, Calbryte™ 520 は、488 nm で励起されます。

Cal-590™、Calbryte™ 590、Cal-630™、Calbryte™ 630、Rhod-2、および Rhod-4™ は赤色蛍光用に使われます。

測定モード：

イオン結合によりスペクトルシフトを示すイオン指示薬は、 Ca^{2+} 濃度の比率計測に使用でき、これは不均一な色素のローディング、細胞の厚さ、光退色効果、および色素漏出とは本質的に無関係です。励起と蛍光波長の選択は、使用機器のタイプやサンプルの自己蛍光、および実験系に他の蛍光や光で活性化されるプローブが用いられるかどうかによって依存します。従来の Indo-1 や Fura-2、そして AAT Bioquest® が開発した Fura-8™ は主にレシオメトリック測定に使われ、Fluo-3、Fluo-4、Fluo-8®, Cal-520®, Calbryte™ 520、Cal-590™、Calbryte™ 590、Cal-630™、Calbryte™ 630、Rhod-2、Rhod-4™ は主に単一波長測定で使われます。

Ca^{2+} 指示薬の透過性（塩または AM エステル）：

塩フォームは通常、微量注入、微粒子銃、またはエレクトロポレーション法により細胞に導入されるか、細胞外アッセイに使用されます。これに対し、細胞透

過性アセトキシメチル（AM）エステルは細胞内に受動的に導入することができ、細胞内エステラーゼにより細胞膜非透過性産物へと切断されます。

解離定数 (K_d)：

使用する指示薬は、対象の Ca^{2+} 濃度領域に対して適切な K_d 値を示すものを選択してください。 Ca^{2+} 指示薬の K_d 値は、pH、温度、イオン強度、粘性、タンパク質結合、 Mg^{2+} や他のイオンの存在といった数々の因子に依存します。その結果、細胞内指示薬の K_d 値は、対応する無細胞溶液中で測定した値に比べ通常著しく高くなります。可視光励起カルシウム指示薬のうち、Fluo-8® や Fluo-4、Fluo-3、Rhod-2、Rhod-4™ が最も一般的に使用されています。

Fluo-8® 指示薬はフローサイトメトリーと共焦点レーザー走査顕微鏡において幅広く使用されています。近年では Fluo-8® AM が GPCR 標的のハイスループットスクリーニングによく使用されています。Fluo-8® は Ca^{2+} に結合しない限り非蛍光性であり、飽和 Ca^{2+} の存在下で ~ 0.15 の量子収量、および Ca^{2+} に対して 390 nM の K_d 値を示します。

Cal-520® はシグナル / バックグラウンド比率と細胞内滞留性が非常に改善された強力な緑色蛍光カルシウム指示薬です。

Calbryte™ 520 は、シグナル / バックグラウンド比率と細胞内滞留性が著しく改善され、さらに簡単な細胞色素導入特性をもつ、488 nm で励起する突出して優れた緑色蛍光カルシウム指示薬です。

Classic Single Wavelength Fluorescent Calcium Indicators

長波長の Rhod-4™ は、自己蛍光レベルの高い細胞や組織を用いる実験では、緑色蛍光の Ca^{2+} 指示薬である Fluo-8® や Fluo-4、Fluo-3 の優れた代替品になります。

Rhod-5N は、他の BAPTA をベースにした指示薬 ($K_d = \sim 320 \mu\text{M}$) のどれよりも Ca^{2+} に対して結合親和性が低く、10 μM から 1 mM までの Ca^{2+} 測定に適しています。そのベースとなった Rhod-2 指示薬のように、Rhod-5N は二価陽イオン非存在下では基本的に非蛍光性であり、 Ca^{2+} に結合すると、スペクトルシフトなしの強力な蛍光増強を示します。いずれの Fluo、Rhod 指示薬も細胞非透過性カリウム塩（塩フォーム）または細胞透過性 AM エステル（AM フォーム）として提供しています。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K_d	品番	包装	希望販売価格
Cal Green™ 1, hexapotassium salt	506	531	190 nM	20500	10×50 μg	¥30,000
Cal Green™ 1, AM [Equivalent to Calcium Green-1, AM]	506	531	190 nM	20501	10×50 μg	¥30,000
				20502	1 mg	¥41,000
Fluo-3, AM	506	526	390 nM	21010	1 mg	¥30,000
Fluo-3, AM *UltraPure grade*	506	526	390 nM	21011	1 mg	¥37,000
				21013	20×50 μg	¥51,000
Fluo-3, pentaammonium salt	506	526	390 nM	21018	1 mg	¥30,000
Fluo-3, pentapotassium salt	506	526	390 nM	21017	1 mg	¥30,000
Fluo-3, pentasodium salt	506	526	390 nM	21016	1 mg	¥30,000
OG488 BAPTA-1, AM [equivalent to Oregon Green® 488 BAPTA-1, AM] *Cell permeant*	494	523	170 nM	20507	10×50 μg	¥41,000
OG488 BAPTA-1, hexapotassium salt [equivalent to Oregon Green® 488 BAPTA-1, hexapotassium salt] *Cell impermeant*	494	523	170 nM	20506	500 μg	¥41,000
Rhod-2, AM	549	578	570 nM	21060	1 mg	¥37,000

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Rhod-2, AM *UltraPure Grade*	549	578	570 nM	21062	1 mg	¥41,000
				21063	50 mg	ご照会
				21064	20×50 µg	¥51,000
Rhod-2, tripotassium salt	549	578	570 nM	21067	1 mg	¥41,000
Rhod-2, trisodium salt	549	578	570 nM	21068	1 mg	¥41,000
Rhod-5N, AM	551	577	0.3 mM	21070	1 mg	¥51,000
Rhod-5N, tripotassium salt	551	577	0.3 mM	21072	1 mg	¥51,000

Blue-Green Fluorescent Calcium Indicators

Cal-500™ 記事 ID : 34954

概要

Cal-500™ は、バイオレットレーザー光で励起する青緑色蛍光カルシウム指示薬です。その励起波長はフローサイトメトリのバイオレットレーザーと一致するため、フローサイトメトリでのカルシウム応答測定が可能です。また、蛍光顕微鏡やマイクロプレートリーダーを用いたカルシウム応答の検出にも有用です。Cal-500™ の蛍光強度は、カルシウムに結合することで 64 倍に増幅します。

使用目的

● FITC、Alexa Fluor® 488、GFP 検出波長や赤色蛍光プローブとの多重解析に

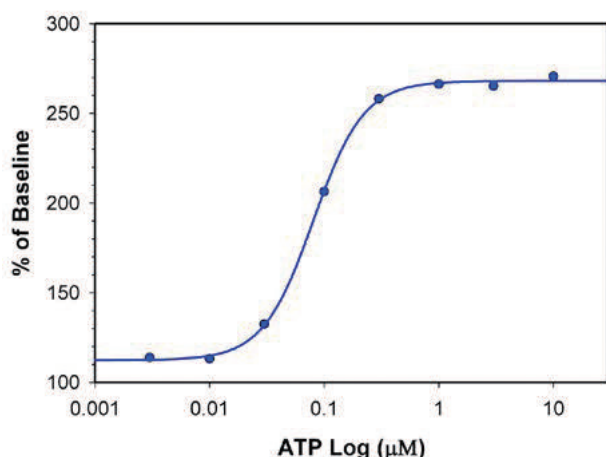


図 2.1 Cal-500™ AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答 (蛍光マイクロプレートリーダー解析)
CHO-K1 細胞の ATP 投与量に応じた細胞内カルシウム応答を Cal-500™ AM (品番: 20410) を使って測定した。細胞に Cal-500™ AM を添加し、37℃で 60 分間培養した。その後、FlexStation® を使って様々な濃度の ATP を細胞に添加し、蛍光量を測定した。

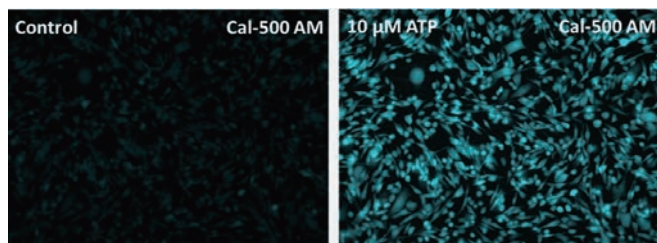


図 2.2 プロベネシドを添加した Cal-500™ AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞内存在性 P2Y 受容体の細胞内カルシウム応答 (蛍光顕微鏡観察)
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 µl / well) し、一晩培養した。プロベネシドを添加した HHBS に Cal-500™ AM を溶解し、これを 100 µl ずつ添加し、37℃で 60 分間培養した。その後、200 µl HHBS で置換した。405 nm と 465 nm のロングパスフィルターをセットした蛍光顕微鏡 (Keyence) を使い、50 µl の 10 µM ATP 添加前後の画像を撮影した。

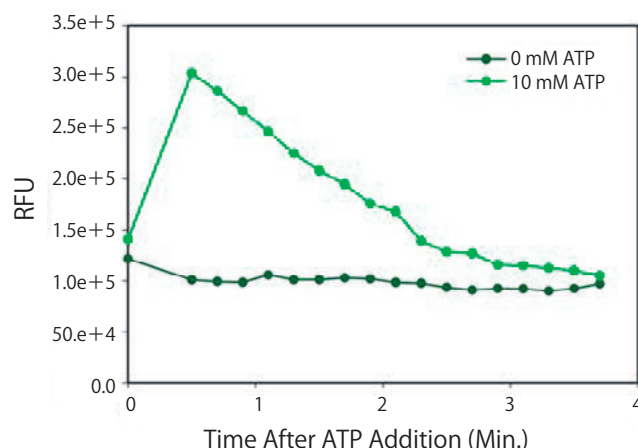
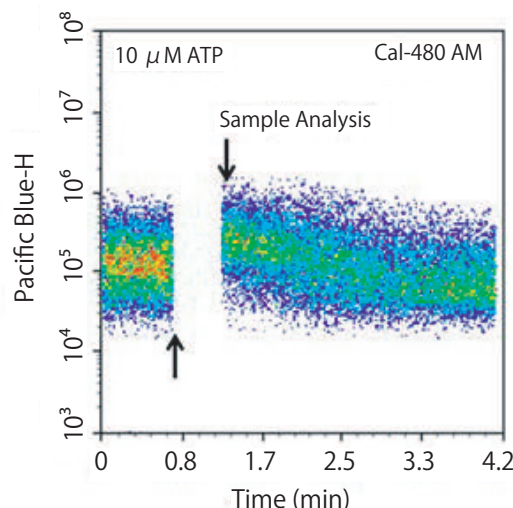


図 2.3 Cal-500™ AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の経時的細胞内カルシウム応答 (フローサイトメトリ解析)

ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答の経時的な変化を Cal-500™ AM (品番: 20410) を使って測定した。細胞に Cal-500™ AM 色素を添加後、37℃で 60 分間培養し、10 µM ATP を添加した。

上: ベースラインを取得し、残りの細胞は ATP 添加後、経時的に反応を測定した (NovoCyte™ 3000 フローサイトメータを使用)。グラフ上の矢印は ATP 添加時点と実際の分析時点を示している。

下: 時間依存性蛍光変化。時間は ATP 刺激に相対し、時間 0 が刺激時間を示し、初期検出点は刺激から ~ 30 秒である。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Cal-500™ AM	390	500	303 nM	20412	10×50 μg	¥41,000
Cal-500™, potassium salt	390	500	303 nM	20410	10×50 μg	¥41,000

Green Fluorescent Calcium Indicators

Traditional Green Fluorescent Calcium Indicators

従来使用されていた Fluo-2 は、Fluo-3 や Fluo-4 の親化合物に当たります。これらの蛍光カルシウム指示薬はカルシウム依存性蛍光を示します。Fluo-3 や Fluo-4 は最も一般的に使用されていた可視光励起性カルシウム指示薬です。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Fluo-2 AM	494	517	232 nM	20494	10×50 μg	¥30,000
Fluo-2, potassium salt	494	517	232 nM	20493	10×50 μg	¥30,000
Mag-Fura-2, AM *Cell-permeant*	336	503	—	20383	10×50 μg	¥41,000
Mag-Fura-2 tetrapotassium salt *Cell impermeant*	336	503	—	20380	1 mg	¥41,000
Fluo-3, AM *UltraPure grade*	506	526	390 nM	21011	1 mg	¥37,000
Fluo-3, pentaammonium salt	506	526	390 nM	21018	1 mg	¥30,000
Fluo-3, pentapotassium salt	506	526	390 nM	21017	1 mg	¥30,000
Fluo-3, pentasodium salt	506	526	390 nM	21016	1 mg	¥30,000
Fluo-3FF, AM *UltraPure grade* *Cell permeant*	506	526	~10 μM	21014	10×50 μg	¥41,000
Fluo-3FF, pentapotassium salt	506	526	~10 μM	21019	1 mg	¥62,000
Fluo-5F, AM *Cell permeant*	494	516	~2.3 μM	20560	10×50 μg	¥41,000
Fluo-5F, pentapotassium Salt *Cell impermeant*	494	516	~2.3 μM	20562	500 μg	¥41,000
Fluo-5N, AM *Cell permeant*	494	516	~90 μM	20566	10×50 μg	¥41,000
Fluo-5N, pentapotassium Salt *Cell impermeant*	494	516	~90 μM	20567	500 μg	¥41,000

Fluo-4 記事 ID : 16703

概 要

Fluo-4 は、よく使われている可視光励起のカルシウム指示薬です。AAT Bioquest® 社の Fluo-4 は、高品質かつ安価な点が特長です。

背 景

細胞透過性 Mag-Fluo-4 AM (品番：20401) は Fluo-4 AM の類似体であり、Mg イオンに対する K_d が 4.7 mM、Ca²⁺ イオンに対する K_d が 22 μM であることから、細胞内 Mg イオン指示薬および低親和性 Ca²⁺ イオン指示薬として有用です。この低親和性蛍光 Ca²⁺ イオン指示薬は、骨格筋における一過性の遊離 Ca²⁺ イオン動態の空間的な平均値を正確に追跡するために使われています。Mag-fluo-4 では、骨格筋における一過性の遊離 Ca²⁺ イオンの空間的な平均値に関して信頼性の高い動態情報が得られます。

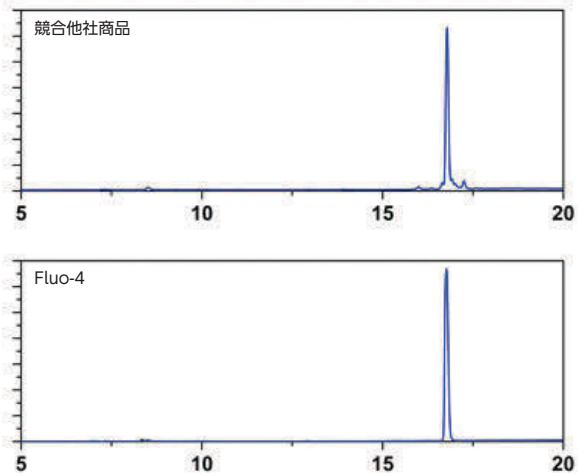


図 2.4 競合他社の Fluo-4 AM との HPLC 解析比較
競合他社商品と比べ、AAT Bioquest® 社の Fluo-4 の方が高純度で高品質であることがわかる。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Fluo-4 AM *Ultrapure Grade* *CAS 273221-67-3*	494	516	345 nM	20552	5×50 μg	¥20,000
				20551	10×50 μg	¥37,000
				20550	1 mg	¥62,000
Fluo-4, Pentapotassium Salt	494	516	345 nM	20556	10×50 μg	¥37,000
				20555	1 mg	¥62,000
Mag-Fluo-4 potassium salt	494	516	22 μM	20400	10×50 μg	¥30,000
Mag-Fluo-4 AM	494	516	22 μM	20401	10×50 μg	¥30,000

Fluo-8[®] Calcium Indicators

記事 ID : 16922

概要

Fluo-8[®] は、Fluo-3、Fluo-4 と同等の波長（最大励起波長 ~ 490 nm、最大蛍光波長 ~ 520 nm）を有しながら、細胞への導入やカルシウム応答を改善した Ca²⁺ 指示薬です。

使用目的

Fluo-3 AM、Fluo-4 AM は細胞への導入に、37°C でのインキュベーションが必要でしたが、Fluo-8[®] AM では室温でも可能です。さらに、Fluo-8[®] AM は Fluo-4 AM よりも 2 倍以上、Fluo-3 AM よりも 4 倍以上の明るさを示します。AAT bioquest[®] 社では、カルシウム結合親和性の異なる Fluo-8[®] 試薬をご用意しています。

特長

- 早いローディング：室温で迅速に細胞に取り込まれます。
- 明るいシグナル：Fluo-3 AM よりも 4 倍、Fluo-4 AM よりも 2 倍明るい
- 便利：Fluo-4 とほぼ同じスペクトル（FITC フィルターセットに適合）

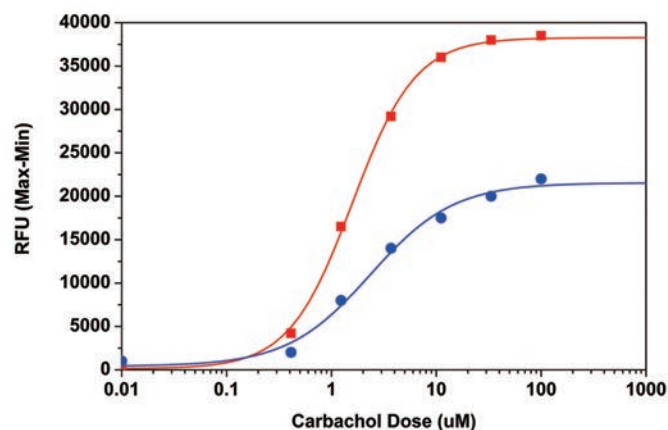


図 2.5 Fluo-8[®] AM と Fluo-4 AM を用いた HEK293 細胞のカルバコール用量反応
HEK-293 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種（40,000 cells / 100 μl / well）し、一晚培養した。培地を除去後、Fluo-4 AM（青線）、Fluo-8 AM（赤線）を溶解した色素ローディング溶液 100 μl を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。カルバコール（25 μl/well）を表記した最終濃度になるように NOVOstar で加えた。蛍光シグナルは Ex / Em = 490 / 525 nm で測定した。Fluo-8[®] で測定したカルバコールの EC₅₀ は約 1.2 μM であった。

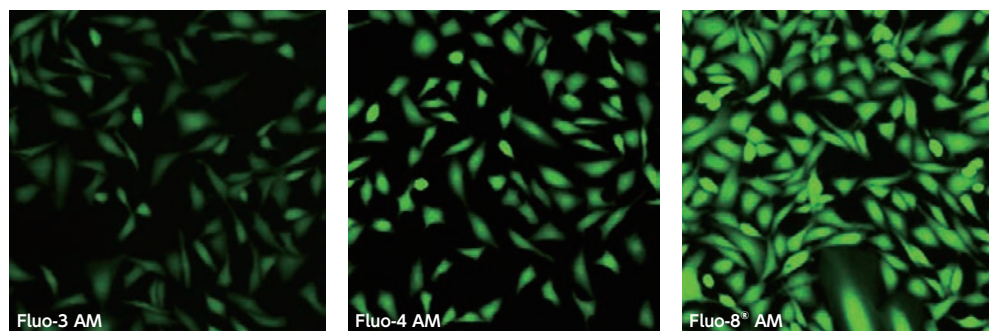


図 2.6 Fluo-3、4、8 の蛍光比較

U2OS 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種（40,000 cells / 100 μl/well）し、一晚培養した。培地を除去後、Fluo-3 AM、Fluo-4 AM および Fluo-8[®] AM を溶解した色素ローディング溶液 100 μl を添加し、1 時間インキュベートした。細胞を 200 μl の HHBS で 2 回洗浄し、FITC チャンネルを用いて Olympus IX71 で撮影した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d (nM)	品番	包装	希望販売価格
Fluo-8 [®] , AM	494	517	389	21081	5×50 μg	¥20,000
				21083	20×50 μg	¥62,000
				21082	10×50 μg	¥37,000
				21080	1 mg	¥37,000
Fluo-8 [®] , potassium salt	494	517	389	21089	10×50 μg	¥41,000
				21087	1 mg	¥62,000

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d (nM)	品番	包装	希望販売価格
Fluo-8 [®] , sodium salt	494	517	389	21088	10×50 μg	¥41,000
				21086	1 mg	¥62,000
Fluo-8FF [™] , AM	494	517	10000	21104	10×50 μg	¥41,000
				21105	1 mg	¥62,000
Fluo-8FF [™] , potassium salt	494	517	10000	21102	10×50 μg	¥41,000
				21103	1 mg	¥62,000
Fluo-8H [™] , AM	494	517	232	21091	10×50 μg	¥41,000
				21090	1 mg	¥62,000
Fluo-8H [™] , sodium salt	494	517	232	21095	10×50 μg	¥41,000
Fluo-8L [™] , AM	494	517	1860	21097	10×50 μg	¥41,000
				21096	1 mg	¥62,000
Fluo-8L [™] , potassium salt	494	517	1860	21100	10×50 μg	¥41,000
				21101	1 mg	¥62,000
Fluo-8L [™] , sodium salt	494	517	1860	21098	10×50 μg	¥41,000
				21099	1 mg	¥62,000

Cal-520[®] Calcium Indicators

記事 ID : 9469

概要

Cal-520[™] AM は既存の緑色カルシウム指示薬 (Fluo-3 AM や Fluo-4 AM) に比べ、シグナル / ノイズ比と細胞内滞留性が非常に改善された新規のカルシウム測定感受性蛍光色素です。

GPCR やカルシウムチャネルを発現した細胞に、細胞膜透過性の Cal-520[™] AM をロードします。一度細胞内に取り込まれると Cal-520[™] AM の脂溶性保護基がエステラーゼにより加水分解され、マイナスにチャージした蛍光色素となります。これがカルシウムと結合することで蛍光強度が増加します。細胞がアゴニストで刺激されると、受容体が細胞内カルシウムの放出を促し、Cal-520[™] の蛍光が著しく増強します。Cal-520[™] AM は長波長、高感度、Ca²⁺ 結合時には 100 倍以上まで増強するという特長から細胞内カルシウムの測定に理想的なインジケータといえます。

特長

- 優れた細胞内滞留性：Fluo-3 AM や Fluo-4 AM よりも長い生細胞内滞留性
- 高感度：Fluo-3 AM や Fluo-4 AM よりも、高い S / N 比
- 簡便：Fluo-3、Fluo-4、Fluo-8[™] 等と同一の波長で測定可能 (最大 Ex / Em = 492 nm / 514 nm)

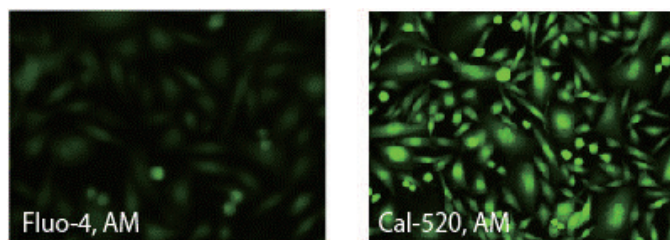
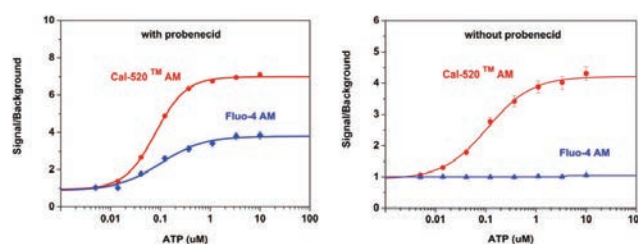


図 2.7 プロベネシド有無の条件下で Cal-520[®] AM または Fluo-4 AM を添加した CHO-K1 細胞内因性 P2Y 受容体の ATP 刺激に対するカルシウム動態
同じ条件下で Cal-520[™] AM (赤色曲線) または Fluo-4 AM (青色曲線) をそれぞれプロベネシドあり (上左)、なし (上右) でインキュベートした。
下左右：CHO-K1 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μl/well) し、一晚培養した。100 μl の HHBS に終濃度 5 μM の Fluo-4 AM または Cal-520[™] AM (+プロベネシド 2.5 mM) を添加した色素導入溶液を細胞に添加し、37℃ で 1 時間インキュベートした。指定された濃度になるように、FlexSation を用いて ATP (50 μl/well) を加えた。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Cal-520 [®] maleimide	492	514	N/D	20610	100 μg	¥83,000
Cal-520 [®] NHS Ester	492	514	N/D	20609	100 μg	¥83,000
Cal-520 [®] , AM	492	514	320 nM	21130	10×50 μg	¥41,000
				21131	1 mg	¥62,000
Cal-520 [®] , potassium salt	492	514	320 nM	21140	10×50 μg	¥62,000
				21141	1 mg	¥83,000
Cal-520 [®] , sodium salt	492	514	320 nM	21135	10×50 μg	¥62,000
				21136	1 mg	¥83,000

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Cal-520®-Biocytin Conjugate	492	514	N/D	20606	5×50 µg	¥62,000
Cal-520®-Biotin Conjugate	492	514	N/D	20605	5×50 µg	¥62,000
Cal-520®-Dextran Conjugate *MW 10,000*	492	514	N/D	20601	5 mg	¥62,000
Cal-520®-Dextran Conjugate *MW 3,000*	492	514	N/D	20600	1 mg	¥41,000
Cal-520FF™, AM	492	514	9.8 µM	21142	1 mg	¥104,000
Cal-520FF™, potassium salt	492	514	9.8 µM	21144	10×50 µg	¥72,000
Cal-520N™, AM	492	514	90 µM	21146	10×50 µg	¥72,000
Cal-520N™, potassium salt	492	514	90 µM	21147	500 µg	¥72,000

Calbryte™ 520 Calcium Indicators 記事 ID : 32934

概要

Calbryte™ シリーズは、細胞内カルシウムをモニターするために開発された蛍光色素ファミリーで、緑色、赤色、深赤色蛍光を示す 3 種類を、AM フォーム（生細胞中のアッセイに適した細胞透過性タイプ）、塩フォーム（生細胞や組織へのマイクロインジェクションに適したタイプ）で提供しています。蛍光顕微鏡、蛍光マイクロプレートリーダー、フローサイトメトリーで測定が可能です。

1989 年に Fluo-3 が発表されて以来、シグナル / バックグラウンド比が改善された Fluo-4 や Fluo-8、Cal-250® が開発され、共焦点顕微鏡、フローサイトメトリー、ハイスループットスクリーニングアプリケーションの Ca²⁺ 指示薬として広く使用されてきました。しかし Fluo-4 にはいくつかの問題、例えば Fluo-4 AM を使用するほとんどの細胞内カルシウムアッセイでは、細胞外漏出を防ぐためにプロベネシドを添加しなければならないといった問題があります。プロベネシドは細胞に対して様々な影響を与えることが知られており、アッセイ結果に問題が生じてしまう可能性があります。

Calbryte™ 520 AM は新規の蛍光細胞透過性カルシウム指示薬で、他の AM 色素と同じく非蛍光性ですが、一度細胞内に入ると細胞内エステラーゼの加水分解を受けて活性化されます。活性化された指示薬は極性分子となり細胞膜を自由に透過できず、主に細胞内で蓄積されます。Calbryte™ 520 は、Ca²⁺ イオンに結合すると非常に高いシグナル / バックグラウンド比をもつ明るい蛍光シグナルを産生します。さらに、Calbryte™ 520 は細胞内滞留性が著しく改善されています。Fluo-4 と同一の励起・蛍光波長のため、Fluo-4 アッセイ設定と同じ設定をそのまま Calbryte™ 520 で利用できます。GPCR やカルシウムチャネルの評価を始め、そのアゴニストやアンタゴニストのスクリーニングに適しています。

特長

- 高輝度：どのカルシウム指示薬よりも、同条件下で非常に明るい
- 高感度：Fluo-3 AM や Fluo-4 AM よりも、大幅に改善された S / N 比
- 優れた細胞内滞留性：細胞内滞留性が大幅に向上
(プロベネシドを使用しなくても OK)
- 迅速なセルローディング（室温でも可能）

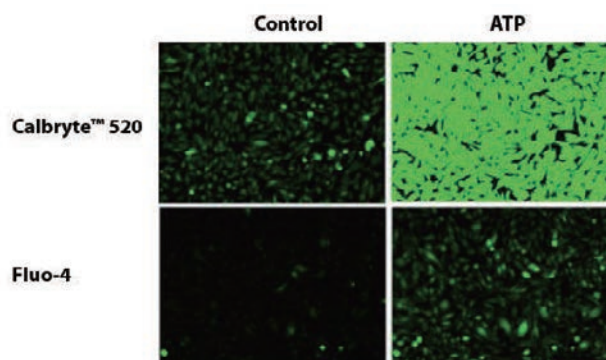


図 2.8 CHO-K1 細胞における内在性 P2Y 受容体の ATP 応答
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 µl / well) し、一晚培養した。プロベネシドを添加した Fluo-4 AM (品番 : 20551) または Cal-520® AM (品番 : 20651) の HHBS 溶液を 100 µl ずつ細胞に添加し、37℃ で 45 分間培養した。色素導入溶液を 200 µl HHBS と置換し、50 µl の 50 µM ATP を添加した。細胞は蛍光顕微鏡 (Keyence) の FITC チャンネルを用いてイメージングした。

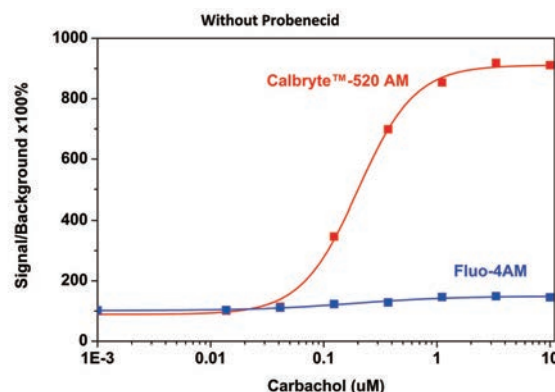


図 2.9 Calbryte™ 520 または Fluo-4 AM を添加した CHO-M1 細胞外因性 M1 受容体のカルバコール刺激に対するカルシウム動態 (プロベネシド添加なし)
CHO-M1 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 µl / well) し、一晚培養した。Calbryte™ 520 AM または Fluo-4 を 100 µl 添加し、37℃ で 45 分間インキュベートした。カルバコール (50 µl/well) を FlexStaion 3 で表記濃度になるまで添加した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Calbryte™ 520 AM	492	514	1.2 nM	20650	2×50 µg	¥20,000
				20651	10×50 µg	¥62,000
				20653	1 mg	¥83,000
Calbryte™ 520 potassium salt	492	514	1.2 nM	20656	2×50 µg	¥41,000
				20658	10×50 µg	¥62,000

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Calbryte™-520L AM	492	514	100000 nM	20640	10×50 µg	¥62,000
Calbryte™-520L, potassium salt	492	514	100000 nM	20642	10×50 µg	¥62,000

Red Fluorescent Calcium Indicators

Cal-590™ Calcium Indicators 記事 ID : 34883

概要

Cal-590™ は Rhod-2 と同等のスペクトル波長を有しながら、細胞への導入とカルシウム応答が Rhod-2 よりも改善された赤色蛍光カルシウム指示薬です。Texas Red® フィルターセットと互換性があります。CHO 細胞や HEK 細胞における Cal-590™ の細胞内カルシウム応答は Rhod-2 AM よりも高感度であり、そのスペクトルは FITC、Alexa Fluor® 488 および GFP と良好に分離できることから、GFP 細胞株や FITC / Alexa Fluor® 488 標識抗体を用いた細胞内アッセイのマルチプレックスを行う上で理想的なカルシウムプローブです。

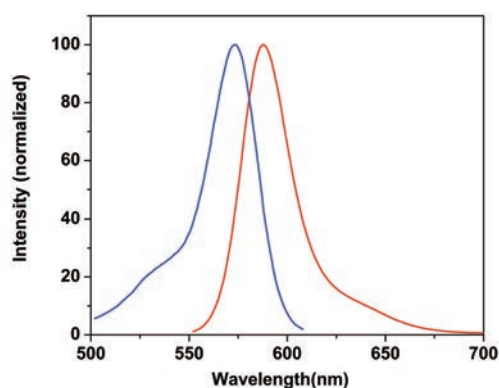


図 2.10 塩化カルシウム (5 mM) 存在下における Cal-590™ 励起と蛍光スペクトル

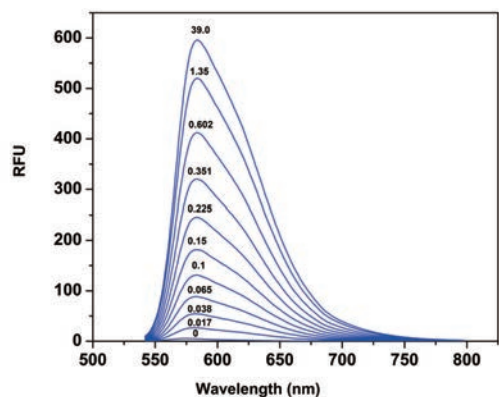


図 2.11 0 ~ 39 µM の遊離 Ca²⁺ 存在下における Cal-590™ 蛍光スペクトル

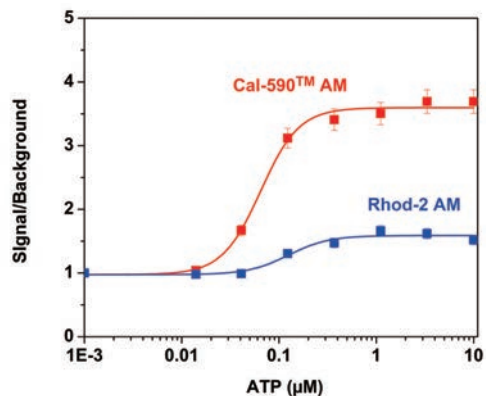


図 2.12 Cal-590™ AM もしくは Rhod-2® AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞内在性 P2Y 受容体の細胞内カルシウム応答 (蛍光プレートリーダー解析)
ATP 刺激した CHO-K1 細胞内在性 P2Y 受容体の細胞内カルシウム応答を Cal-590™ AM (赤色、品番 : 20510) または Rhod-2® AM (青色、品番 : 21064) を使って測定した。CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートの播種 (50,000 cells / 100 µl / well) し、一晚培養した。2.5 mM プロベネシドと 5 µg/ml Cal-590™ AM または Rhod-2® AM を 100 µl ずつ細胞に添加し、37℃ で 1 時間培養した。表記した最終濃度となるよう ATP (50 µl/well) を FlexStation® (Molecular Devices) を使って添加した。

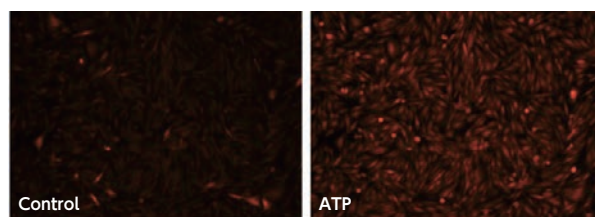


図 2.13 プロベネシドを添加した Cal-590™ AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞内在性 P2Y 受容体の細胞内カルシウム応答 (蛍光顕微鏡観察)
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートの播種 (40,000 cells / 100 µl / well) し、一晚培養した。1 mM プロベネシドを添加した HHBS に 4 µM Cal-590™ AM (品番 : 20510) を溶解し、これを 100 µl ずつ添加した後、37℃ で 2 時間培養した。その後、色素導入溶液を 100 µl 1 mM プロベネシド含有 HHBS で置換した。TRITC チャンネルを用いた蛍光顕微鏡 (Olympus IX71) を使って、50 µl の 300 µM ATP 添加前後の画像を撮影した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d (µM)	品番	包装	希望販売価格
Cal-590™ AM	573	588	561	20510	5×50 µg	¥41,000
				20511	10×50 µg	¥62,000
				20512	1 mg	¥104,000
Cal-590™, potassium salt	573	588	561	20518	5×50 µg	¥41,000
				20519	1 mg	¥104,000
Cal-590™, sodium salt	573	588	561	20515	5×50 µg	¥41,000
Cal-590™-Dextran Conjugate *MW 10,000*	573	588	N/D	20509	1 mg	¥62,000

Calbryte™ 590 Calcium Indicators 記事 ID : 32934

概要

Calbryte™ 590 は、Calcium Orange™ や Rhod-2 といった AAT Bioquest® 社の橙赤蛍光指示薬の性能を高めたものです。この色素の最大励起波長は 580 nm であり、555 nm レーザー線と良好に励起します。最大蛍光波長は 592 nm であり、TRITC / Cy3® フィルターセットと互換性があります。Calbryte™ 590 は、同様条件下で Rhod-2 に比べておよそ 10 倍のカルシウム感度があります。さらに、ミトコンドリアに主に局在する Phod-2 と異なり Calbryte™ 590 は細胞質基質に良好に保持されます。

特長

- GFP と互換性：GFP とは重ならない赤方偏移スペクトル
- 従来品の代替品：Calcium Orange™ や Rhod-2 の優れた代替品
- 高感度：Rhod-2 に比べ 10 倍ほど高感度
- 優れた S / N 比：Rhod-2 や Cal-590™ よりも細胞内で大幅に改善された S / N 比
- 優れた細胞内滞留性：細胞内保持力が大幅に向上
- 均一な細胞質局在

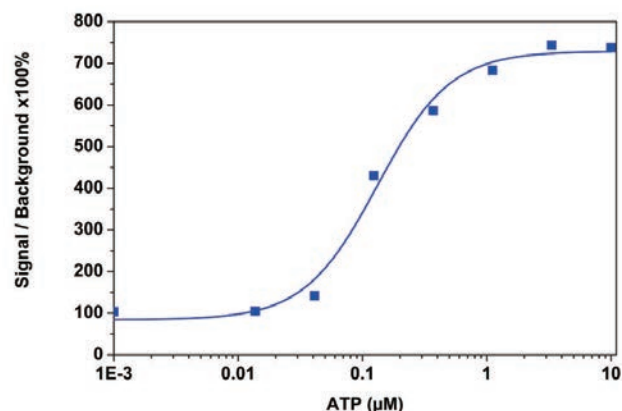


図 2.14 Calbryte™ 590 AM による CHO-K1 細胞の ATP 用量反応
CHO-K1 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μ l / well) し、一晚培養した。HH バッファーに溶解した Calbryte™ 590 AM (10 μ g / ml) を 100 μ l 添加し、37℃で 60 分間インキュベートした。色素導入溶液を 200 μ l HH バッファーで置換し、ATP (50 μ l / well) を FlexStation 3 を用いて表記濃度になるまで添加した。

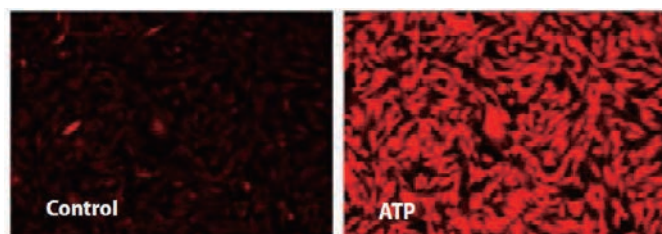


図 2.15 Calbryte™ 590 AM による CHO-K1 細胞における内在性 P2Y 受容体の ATP 応答
CHO-K1 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μ l / well) し、一晚培養した。2 mM プロベネシドを含んだ HHBS に溶解した Calbryte™ 590 AM (品番 : 20701) を 100 μ l 添加し、37℃で 1 時間培養した。色素導入溶液を 200 μ l HHBS で置換し、TRITC チャンネルを用いた蛍光顕微鏡 (Keyence) を使って、50 μ M ATP (50 μ l) 添加前後の画像を撮影した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d (μ M)	品番	包装	希望販売価格
Calbryte™ 590 AM	573	588	1.4	20700	2×50 μ g	¥41,000
				20701	10×50 μ g	¥83,000
				20702	1 mg	¥125,000
Calbryte™ 590 potassium salt	573	588	1.4	20706	5×50 μ g	¥62,000
				20707	1 mg	¥158,000

Cal-630™ Calcium Indicators

概要

Cal-630™ は X-Rhod-1 と同等のスペクトル波長を有しながら、細胞への導入とカルシウム応答が X-Rhod-1 よりも改善された赤色蛍光カルシウム指示薬です。Texas Red® フィルターセットと互換性があります。CHO 細胞や HEK 細胞における Cal-630™ の細胞内カルシウム応答は X-Rhod-1 よりも高感度であり、そのスペクトルは FITC、Alexa Fluor®488 および GFP と良好に分離できることから、GFP 細胞株や FITC / Alexa Fluor®488 標識抗体を用いた細胞内アッセイのマルチプレックスを行う上で理想的なカルシウムプローブです。

特長

- GFP と互換性：GFP とは重ならない赤方偏移スペクトル
- 従来品の代替品：X-Rhod-1 や Cal-630™ の優れた代替品
- 優れた細胞内滞留性：細胞内保持力が大幅に向上
- マルチプレックスに最適：iFluor™488、AlexaFluor®488、GFP などの緑色蛍光と重ならないスペクトル

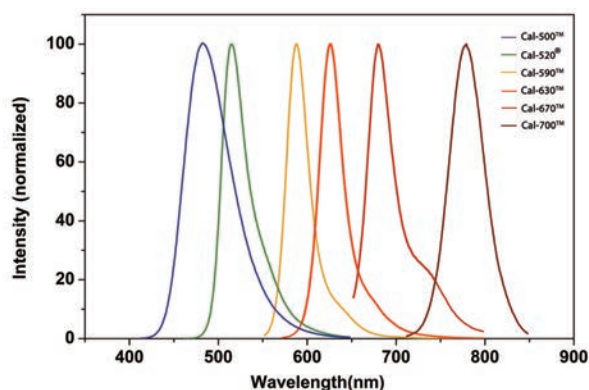


図 2.16 Cal-500™、Cal-520®, Cal-590™、Cal-630™、Cal-670™、および Cal-700™ の蛍光スペクトル

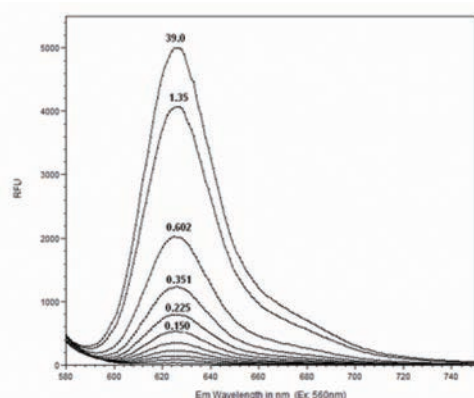


図 2.17 0 ~ 39 μM の遊離 Ca²⁺ 存在下における Cal-630™ の蛍光スペクトル

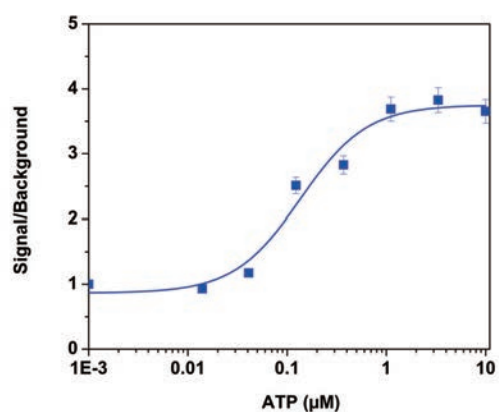


図 2.18 Cal-630™ AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞内性 P2Y 受容体のカルシウム応答の検出

CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μl / well) し、一晚培養した。2.0 mM プロベネシドを添加した 100 μl の Cal-630™ AM (10 μg/ml) を細胞に添加し、37℃で 2 時間培養した。ATP (50 μg/well) を FlexStation® (Molecular Devices) を用いて表記濃度になるまで添加した。

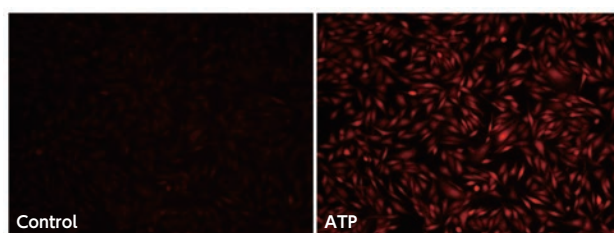


図 2.19 Cal-630™ AM による、CHO-K1 細胞における内性 P2Y 受容体の ATP 応答
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μl) し、一晚培養した。1 mM プロベネシドを添加した HBBS に 4 μM Calbryte™ 590 AM (品番: 20701) を溶解し、これを 100 μl ずつ添加した後、37℃で 2 時間培養した。その後、色素導入溶液を 100 μl の 1 mM プロベネシド含有 HBBS で置換した。TRITC チャネルを用いた蛍光顕微鏡 (Olympus IX71) を使って、300 μM ATP (50 μl) 添加前後の画像を撮影した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d (μM)	品番	包装	希望販売価格
Cal-630™ AM	608	626	792	20530	5×50 μg	¥62,000
				20531	10×50 μg	¥83,000
				20532	1 mg	¥146,000
Cal-630™, potassium salt	608	626	792	20538	5×50 μg	¥41,000
Cal-630™, sodium salt	608	626	792	20535	5×50 μg	¥41,000
Cal-630™-Dextran Conjugate *MW 10,000*	608	626	N/D	20546	1 mg	¥62,000

Calbryte™ 630 Calcium Indicators 記事 ID : 2934

概要

Calbryte™ 630 は、X-Rhod-1 の性能を高めたものです。この色素は最大励起波長 608 nm をもち、594 nm レーザー波長と一致します。この色素の最大蛍光波長は 624 nm であり、一般的な Texas® Red フィルターセットと互換性があります。緑色スペクトル領域と離れているため、Calbryte™ 630 は iFluor™ 488、Alexa Fluor® 488、または GFP といった緑色蛍光標識とのマルチプレックスに適しています。さらに、Calbryte™ 630 がもつ蛍光波長が長波長なため、組織深層部の研究に適しています。これは波長が長い色素ほど細胞層に浸透しやすいからです。

特長

- GFP に対応する赤方偏移カルシウム指示薬
- X-Rhod-1 や Cal-630™ の優れた代替品
- 細胞内保持力が著しく亢進
- iFluor™ 488、Alexa Fluor® 488、または GFP 等の緑色蛍光標識とのマルチプレックスに最適

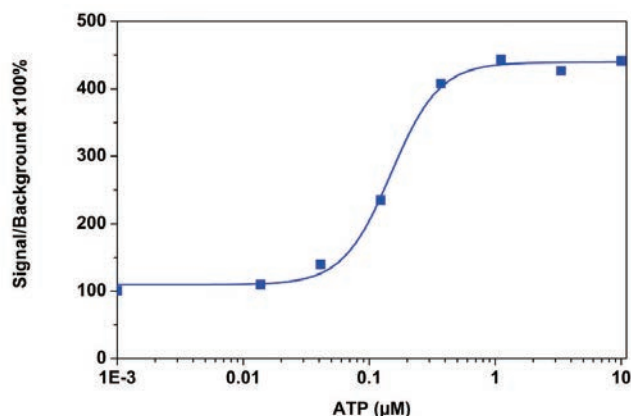


図 2.20 Calbryte™ 630 AM による、CHO-K1 細胞の ATP 用量反応
CHO-K1 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μ l / well) し、一晩培養した。HH バッファーに Calbryte™ 630 AM (10 μ g/ml) を 100 μ l 添加し、37°C で 60 分間インキュベートした。色素導入溶液を 200 μ l HH バッファーで置換し、ATP (50 μ l/well) を FlexStation 3 で表記濃度になるまで添加した。

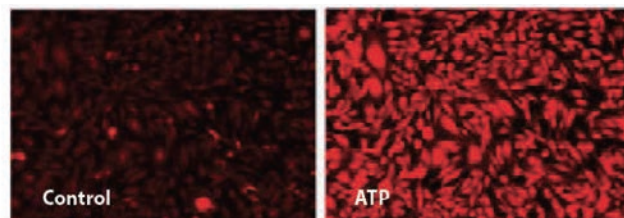


図 2.21 Calbryte™ 630 AM による、CHO-K1 細胞における内在性 P2Y 受容体の ATP 応答

CHO-K1 細胞を、96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μ l / well) し、一晩培養した。2 mM プロベネドを含んだ HHBS に溶解した Calbryte™ 630 AM (品番 : 20721) を 100 μ l 添加し、37°C で 1 時間培養した。その後、色素導入溶液を 200 μ l HHBS で置換した。Texas Red® チャネルを用いた蛍光顕微鏡 (Keyence) を使って、50 μ M ATP (50 μ l) 添加前後の画像を撮影した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d (μ M)	品番	包装	希望販売価格
Calbryte™ 630 AM	608	626	1.2	20720	2×50 μ g	¥41,000
				20721	10×50 μ g	¥83,000
				20722	1 mg	¥146,000
Calbryte™ 630 potassium salt	608	626	1.2	20727	5×50 μ g	¥62,000

Rhod-4™ Calcium Indicators 記事 ID : 1197

概要

最も一般的に使用されている赤色蛍光カルシウム指示薬は Rhod-2 ですが、これは生細胞中でエステラーゼにより加水分解を受けて中程度の蛍光しか発せず、細胞のカルシウム応答が非常に弱いことが問題視されています。さらに、Rhod-2 は導入後ミトコンドリア内に濃縮され、細胞内に均一に局在化しません。Rhod-4™ は、Rhod-2 の細胞導入とカルシウム応答を改善しつつ、Rhod-2 と類似したスペクトル波長をもつよう開発された色素です。CHO 細胞や HEK 細胞において、Rhod-4™ AM (品番 : 21112) の細胞内カルシウム応答は Rhod-2 AM に比べて 10 倍ほど高感度です。AAT Bioquest® 社の社内試験では、Rhod-4™ AM は Rhod-2 AM では検出できない幹細胞由来心筋細胞に一過的に存在するカルシウムも検出できることが確認できています。Rhod-4™ AM が Rhod-2 AM より高感度である理由は、細胞導入効率が低いことに起因していると思われます。

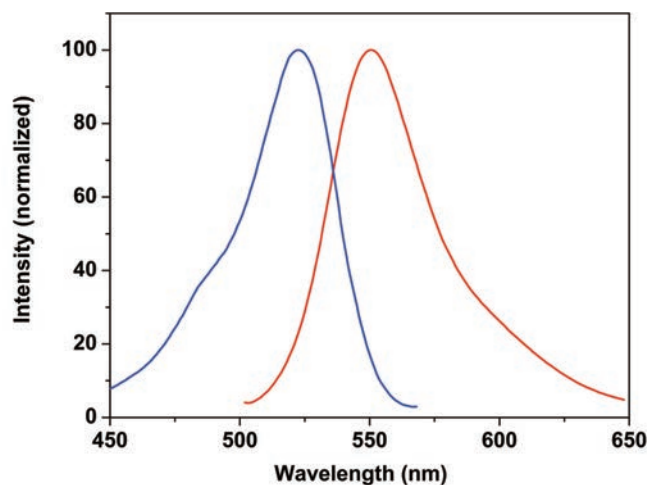


図 2.22 塩化カルシウム (5 mM) 含有 PBS 中における Rhod-4™ 励起と蛍光スペクトル

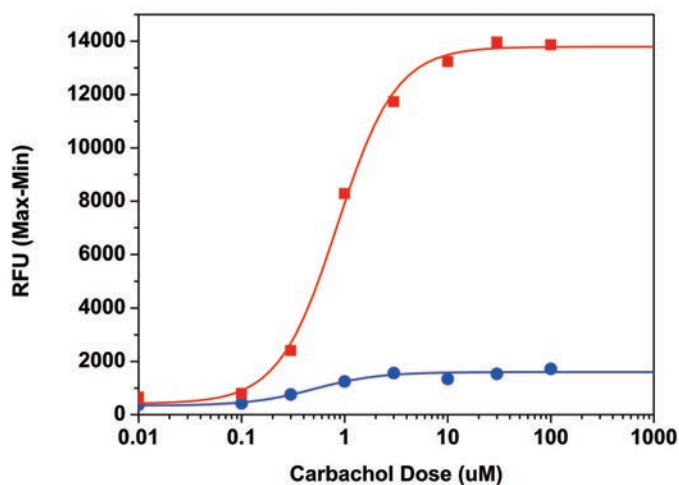


図 2.23 Rhod-4™ AM あるいは Rhod-2 AM を用いた、HEK-293 細胞のカルバコール用量反応の測定

HEK-293 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μ l / well) し、一晩培養した。培地を除去し、5 μ M の Rhod-4™ AM あるいは Rhod-2 AM を 100 μ l 加え、室温で 1 時間、インキュベートした。カルバコール (25 μ l/well) を NOVOstar (BMG Labtech 社) で表記濃度になるまで添加した。Rhod-4™ AM を用いたカルバコールの EC₅₀ は 0.8 μ M であった。

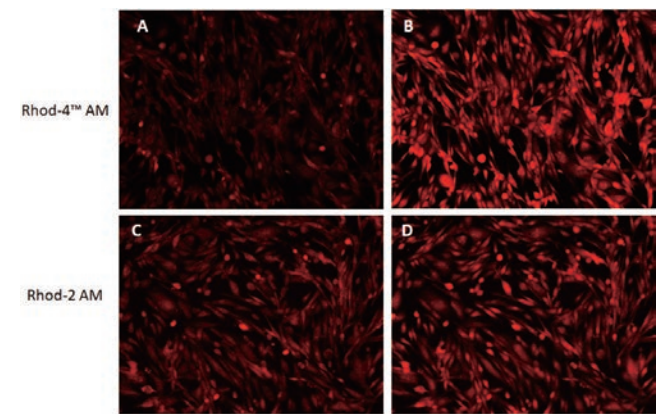


図 2.24 Rhod-4™、Rhod-2 AM による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞内在性 P2Y 受容体のカルシウム応答の検出
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μ l / well) し、一晚培養した。培地を除去し、Rhod-4™ AM (4 μ M、A および B) あるいは Rhod-2 AM (4 μ M、C および D) をそれぞれ 100 μ l 加え、37℃で 1 時間、5% CO₂ インキュベート内でインキュベートした。200 μ l HHBS で 2 回洗浄後、TRITC チャンネルをセットした蛍光顕微鏡 (Olympus IX71) を使って、ATP 添加前後 (前: A および C、後: B および D) の画像を撮影した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Rhod-4™, AM	524	551	451 nM	21121	5×50 μ g	¥41,000
				21122	10×50 μ g	¥62,000
				21123	20×50 μ g	¥104,000
				21120	1 mg	¥104,000
Rhod-4™, sodium salt	524	551	451 nM	21128	5×50 μ g	¥62,000
				21118	1 mg	¥104,000
Rhod-4™, potassium salt	524	551	451 nM	21129	5×50 μ g	¥62,000
				21119	1 mg	¥104,000

NIR Fluorescent Calcium Indicators

遠赤外から近赤外 (NIR) の蛍光カルシウム指示薬は、*in vivo* または *ex vivo* 実験においてより高い組織透過性を示します。また、バックグラウンドになってしまう自己蛍光との波長のオーバーラップが少なく、光毒性も低減されています。さらに、遠赤外から近赤外の蛍光カルシウム指示薬は、遺伝子的に発現される蛍光タンパク質や、他のインジケーターやマーカーとは波長が離れており、多色画像化に使用できます。

Cal-670™ Calcium Indicators

記事 ID : 34963

概要

Cal-670™ は遠赤外蛍光カルシウム指示薬 (Ex / Em = 650 nm / 675 nm) であり、この色素は Cy5® の検出セットアップで簡単に検出できます。Cal-670™ の蛍光強度は、カルシウムに結合することで 125 倍に増幅します。

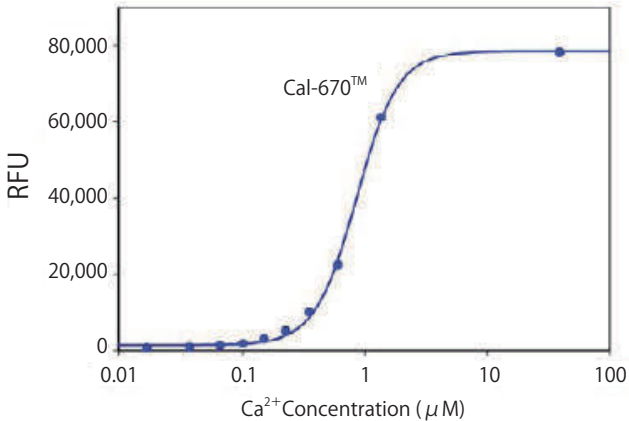


図 2.25 Ca²⁺ 濃度変化が Cal-670™ の蛍光強度に与える影響
様々な遊離 Ca²⁺ 濃度を含む緩衝液に Cal-670™ を添加し、インキュベートした。蛍光強度を蛍光光度計 (Gemini XS, Molecular Devices) で測定した。Cal-670™ の K_d 値は 853 nM である。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K _d	品番	包装	希望販売価格
Cal-670™, potassium salt	650	675	853 nM	20455	10×50 μ g	¥83,000
Cal-670™-Dextran Conjugate *MW 3,000*	650	675	N/D	20456	1 mg	¥104,000
Cal-670™-Dextran Conjugate *MW 10,000*	650	675	N/D	20457	1 mg	¥104,000

Cal-770™ Calcium Indicators 記事 ID : 34963

概要

Cal-770™ は NIR 蛍光カルシウム指示薬 (Ex / Em = 750 nm / 775 nm) であり、この色素は、励起・蛍光波長が 700 nm より長波長で、 K_d 値が ~ 850 nM の中程度のカルシウム親和性をもつ *in vivo* イメージングに使用できる数少ない NIR 蛍光カルシウム指示薬の一つです。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	K_d	品番	包装	希望販売価格
Cal-770™, potassium salt	750	775	850 nM	20460	10×50 μ g	¥83,000
Cal-770™-Dextran Conjugate *MW 3,000*	750	775	N/D	20461	1 mg	¥104,000
Cal-770™-Dextran Conjugate *MW 10,000*	750	775	N/D	20462	1 mg	¥104,000

Fluorescent Ratiometric Calcium Indicators

BTC

レシオメトリック型カルシウム指示薬のうち、Fura-2 と Indo-1 が最も一般的に使用されています。BTC もまた、レシオメトリック型カルシウム指示薬ですが、カルシウムへの親和性が低いことから高カルシウムレベル検出においてのみ使用できます。近年では、カリウムチャネルのモニターに BTC が使われることが多くなりました。これは、BTC がカリウムチャネルを選択的に通過するタリウムイオンに結合した際の蛍光促進応答が優れているためです。

Fura-2

Fura-2 は細胞内の遊離カルシウムに結合するレシオメトリック型蛍光色素です。この色素はカルシウム応答イメージングにはじめて使用されて以来、よく用いられています。Fura-2 は 340 nm および 380 nm で励起し、それらの波長での蛍光比率は細胞内カルシウム量と直接的に比例します。またカルシウムの存在如何を問わず、Fura-2 は 510 nm で蛍光します。この比率を利用すると、可変的な色素濃度や細胞数といった交絡する変数がキャンセルされるため、Fura-2 はカルシウムレベルの定量を行う上で最も評価されているツールの一つといえます。Fura-2 は、蛍光波長より励起波長を変える方が実用的なレシオイメージング顕微鏡でよく使われます。

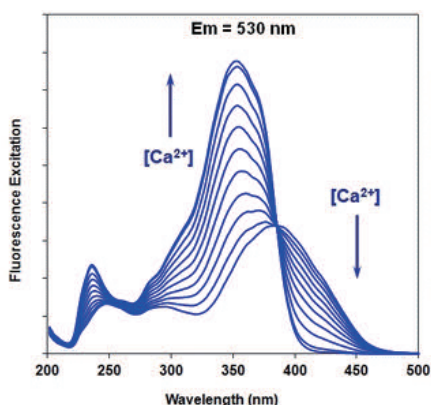


図 3.1 0 ~ 39 μM の遊離 Ca^{2+} 存在下における Fura-2 の蛍光励起スペクトル

Fura-8™

Fura-2 は励起の比率計測が可能なカルシウム指示薬として好まれ、よく使用されてきましたが、Fluo-8® や Cal-520® といった単一波長カルシウム試薬に比べて感度が低いことから、制限もあります。AAT Bioquest® 社では、近年 Fura-2 のカルシウム応答性を改善した Fura-8™ を開発しました。図 3.2 と図 3.3 に示した通り、Fura-8™ AM は Fura-2 AM に比べてカルシウムへの感受性が高いことがわかります。さらに、Fura-8™ の蛍光波長は長波長側 ($\text{Em} = 525 \text{ nm}$) に移行しています。Fura-8™ は、405 nm における励起に優れ、バイオレットレーザーラインと完全に一致することから細胞内カルシウムのフローサイトメトリ分析にも使用できると想定されます。

特長

- Fura-2 と同一のカルシウム応答性
- 赤色にシフトした二重励起波長 (354 nm / 415 nm)
- フローサイトメトリーアプリケーションに適した 405 nm での良好な励起
- 一般的なフィルターセットに対応
- Fura-2 より高いシグナル / バックグラウンド比率

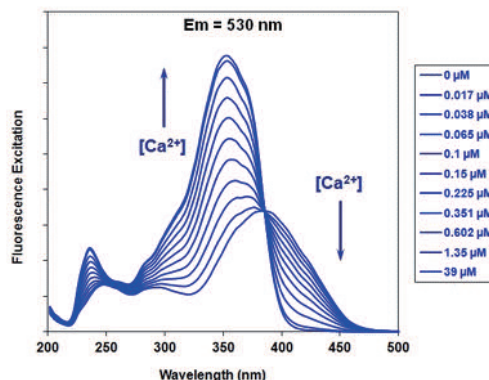


図 3.2 0 ~ 39 μM の遊離 Ca^{2+} 存在下における Fura-8™ の蛍光励起スペクトル

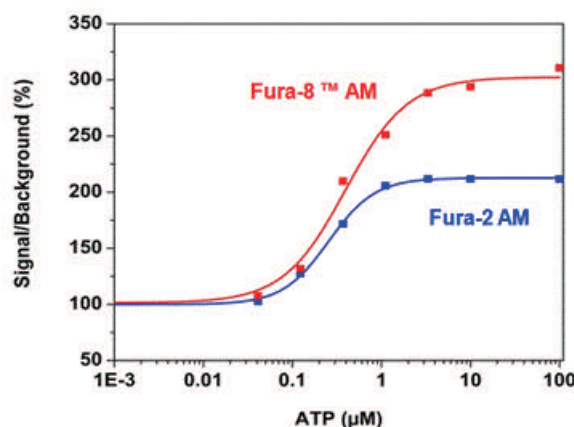
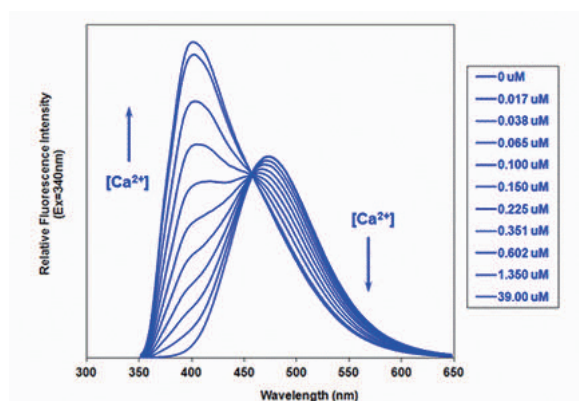


図 3.3 Fura-2 AM もしくは Fura-8™ AM による、CHO-K1 細胞の ATP 用量反応
CHO-K1 細胞の ATP 投与量に応じた細胞内カルシウム応答を Fura-2 AM (青色、品番：21021) もしくは Fura-8™ AM (赤色、品番：21056) を使って測定した。CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μl) し、一晚培養した。Fura-2 AM または Fura-8™ 下にて室温で 1 時間培養した。ATP (50 μl /well) は FlexStation® (Molecular Devices) を使って添加した。

Indo-1

Indo-1 は、Fura-2 や Fura-8™、BTC とは対照的にフローサイトメトリー用のレシオメトリック型カルシウム指示薬として選ばれ、励起に単一レーザー (通常、アルゴン - イオンレーザーの 351 - 364 nm スペクトルライン) がよく用いられています。Indo-1 の最大蛍光波長は Ca^{2+} を含まない培地では ~ 475 nm ですが、色素が Ca^{2+} で飽和されている場合は ~ 400 nm へと移行します (図 3.4 参照)。Indo-1 は細胞透過性ではないものの、そのペンタアセトキシメチルエステルである Indo-1 AM は細胞透過性であり、細胞内エステラーゼに切断されて Indo-1 となります。

図 3.4 0 ~ 39 μM の遊離 Ca^{2+} 存在下における Indo-1 の蛍光発光スペクトル

Cal Red™ R525/650

最も一般的なレシオメトリック型カルシウム指示薬（例えば Fura-2 や Indo-1 など）には、低感度、UV 励起性、HTS スクリーニングフィルターセットに対応していない、といった制限があります。Cal Red™ R525/650 は 488 nm 励起性のレシオメトリック型蛍光カルシウム指示薬として新たに開発されたものです。本品はキレート剤であり、カルシウムに結合すると 488 nm での励起に伴い、525 nm の蛍光シグナルが増大し 650 nm のピークが低下します（図 3.5 参照）。Cal Red™ R525/650 の励起波長と蛍光波長は、細胞への損傷が最小限に抑えられている一般的なフィルターセットに対応しており、GPCR アゴニストやアンタゴニストおよびカルシウムチャネルターゲットの評価やスクリーニングにおいて強力なツールとなります。

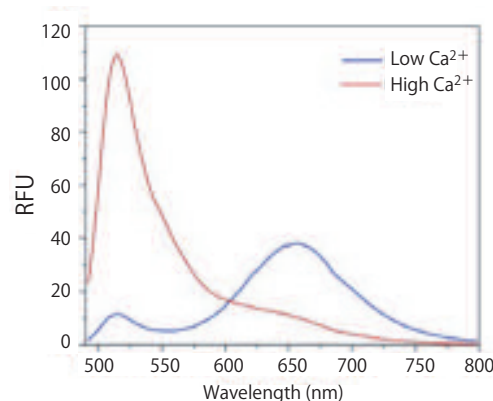


図 3.5 Cal Red™ R525/650 蛍光スペクトルのカルシウム濃度による比較

品名	Zero Calcium		High Calcium		K_d	品番	包装	希望販売価格
	Ex(nm)	Em(nm)	Ex(nm)	Em(nm)				
BTC AM	464	533	401	529	7,000 nM	21054	1 mg	¥51,000
BTC, tetrapotassium salt	464	533	401	529	7,000 nM	21053	1 mg	¥41,000
Cal Red™ R525/650 AM	492	650	492	525	330 nM	20590	1 mg	¥104,000
Cal Red™ R525/650, potassium salt	492	650	492	525	330 nM	20588	5×50 μg	¥41,000
Fura-2 AM *UltraPure grade*	363	512	335	505	145 nM	21021	1 mg	¥20,000
Fura-2, pentapotassium salt	363	512	335	505	145 nM	21025	1 mg	¥16,000
Fura-2, pentasodium salt	363	512	335	505	145 nM	21026	1 mg	¥16,000
Fura-8™, AM	386	532	354	524	260 nM	21055	1 mg	¥20,000
Fura-8™, potassium salt	386	532	354	524	260 nM	21057	1 mg	¥20,000
Fura-8™, sodium salt	386	532	354	524	260 nM	21058	1 mg	¥20,000
Fura-8FF™, AM	386	532	354	415	6 μM	20620	10×50 μg	¥41,000
Fura-8FF™, potassium salt	386	532	354	415	6 μM	20621	10×50 μg	¥41,000
Fura-FF, AM [Fura-2FF, AM]	363	512	363	512	5.5 μM	21027	10×50 μg	¥41,000
Fura-FF, pentapotassium salt	363	512	363	512	5.5 μM	21028	10×50 μg	¥41,000
Fura Red, AM	490	656	458	597	400 nM	21048	10×50 μg	¥51,000
Fura Red, potassium salt	490	656	458	597	400 nM	21047	10×50 μg	¥51,000
Indo-1 AM *UltraPure grade*	346	475	330	401	230 nM	21032	1 mg	¥30,000
Indo-1, pentapotassium salt	346	475	330	401	230 nM	21040	1 mg	¥20,000
Indo-1, pentasodium salt	346	475	330	401	230 nM	21044	1 mg	¥20,000
Quin-2 AM	353	495	333	495	60 nM	21050	1 mg	¥37,000
Quin-2, tetrapotassium salt	353	495	333	495	60 nM	21052	5 mg	¥30,000

Luminescent Calcium Indicators

Luminescent Calcium Indicators 記事 ID : 7449

エクオリン複合体は、22,000 Da のアポエクオリンタンパク質、酸素分子、および発光団セレンテラジンから構成されています。3 つの Ca^{2+} イオンがこの複合体に結合すると、セレンテラジンが酸化されセレンテラミドとなり、同時に二酸化炭素と青色光を放出します。エクオリン生物発光の Ca^{2+} 濃度への依存度はおよそ 3 乗であり、0.1 μM から 100 μM 以上の幅広い検出範囲で Ca^{2+} 濃度を測定できます。蛍光 Ca^{2+} 指示薬と異なり、 Ca^{2+} 結合型エクオリンはサンプルを照射することなく検出できるため、自家蛍光の干渉を排除できます。

AAT Bioquest® 社では、アポエクオリン cDNA をトランスフェクションした細胞内でエクオリンを再構成するために、セレンテラジンやいくつかの合成セレンテラジンアナログを提供しています。また、天然セレンテラジンの他に、AAT Bioquest® 社ではエクオリン複合体に対して異なる Ca^{2+} 親和性とスペクトル特性を持つ、いくつかのセレンテラジン誘導体を提供しています。セレンテラジン hcp により再構成された組換え型アポエクオリンは、量子収量がよく、応答時間が迅速であるなど最も良好な発光を持つことが報告されています。しかし、セレンテラジンアナログからのエクオリン細胞内再構成は比較的時間がかかります。セレンテラジンの cp、f または h フォームをもつエクオリンは、天然セレンテラジンから再構成されたアポエクオリン再構成物に比べて 10 ~ 20 倍ほど強く発光します。セレンテラジン h は GPCR の HTS スクリーニングアッセイに優先的に使用されています。

品名	Ex(nm)	RL	HRT(ms)	品番	包装	希望販売価格
Coelenterazine	466	1	6-30	21150	250 μg	¥16,000
				21156	1 mg	¥20,000
				21166	10 mg	¥104,000
Coelenterazine cp *UltraPure grade*	442	28	2-5	21151	250 μg	¥20,000
				21157	1 mg	¥62,000
Coelenterazine f *UltraPure grade*	472	20	6-30	21152	250 μg	¥20,000
				21158	1 mg	¥62,000
Coelenterazine h	466	16	6-30	21153	250 μg	¥16,000
				21159	1 mg	¥20,000
				21165	10 mg	¥104,000
Coelenterazine hcp	445	500	2-5	21154	250 μg	¥20,000
Coelenterazine hcp *UltraPure grade*	445	500	2-5	21160	1 mg	¥62,000
Coelenterazine n *UltraPure grade*	468	0.15	6-30	21155	250 μg	¥20,000
				21161	1 mg	¥62,000

Screen Quest™
Luminometric Calcium Assay Kit 記事 ID : 7449

セレンテラジン商品単独のほか、AAT Bioquest® 社ではルミネッセンスカルシウムアッセイキットを提供しています。キットはアポエクオリン遺伝子をトランスフェクションされた細胞のカルシウム指示薬として、カルシウム高感受性で膜透過性のセレンテラジンアナログを使用しています。本キットは蛍光ベースのカルシウムアッセイキット (Fluo-4、Fluo-3、Calcium-3、Calcium-4 など) よりもはるかに高感度で、GPCR およびカルシウムチャネルのモニタリングに最適なアッセイキットです。また、96 well あるいは 384 well マイクロタイタープレートフォーマットでのアッセイの自動化も容易です。

構成内容

- Component A : Coelenterazine Analog
- Component B : 100% ETOH
- Component C : Assay Buffer

次ページに続く

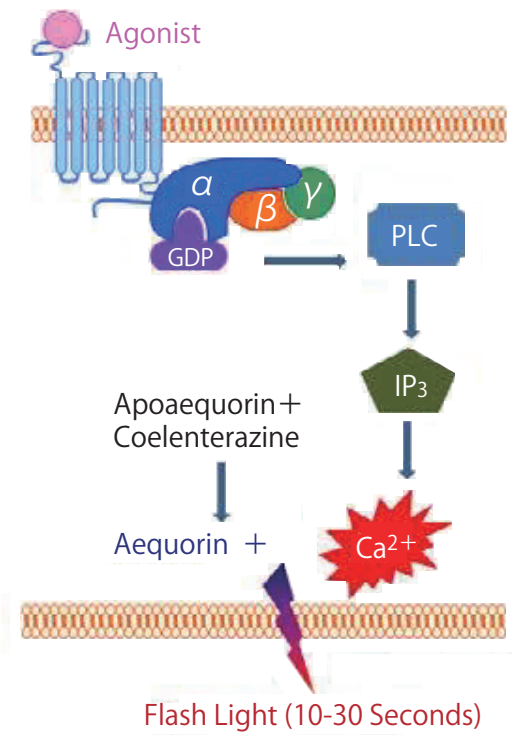


図 4.1 エクオリンを用いたカルシウムアッセイ原理
発光をベースにしたカルシウムアッセイでは発光団としてセレンテラジン h の使用が好まれる。

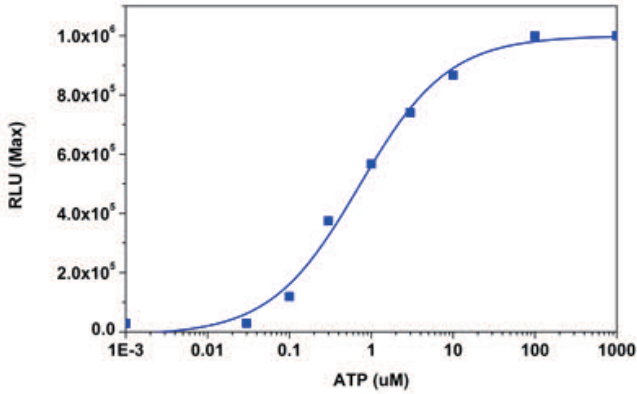


図 4.2 CHO-aeq 細胞の ATP 用量反応
アポエクオリンを安定発現する CHO 細胞を、96 well 白壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μ l/well) し、一晚培養した。培地を除去し、細胞に Screen Quest™ Luminometric カルシウムアッセイキットに使用されている色素導入溶液 100 μ l を添加後、室温で 3 時間、遮光してインキュベートした。示した終濃度にするため、ATP (25 μ l/well) を NOVOstar (BMG Labtech) を使い添加した。ATP の EC₅₀ は約 0.8 μ M である。

品名	Ex(nm)	RL	HRT(ms)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Luminometric Calcium Assay Kit	466	16	6-30	36305	10 Plates	¥72,000
Screen Quest™ Luminometric Calcium Assay Kit *10X10 Plates*	466	16	6-30	36306	100 Plates	ご照会

Live Cell Calcium Assays

FLIPR Calcium Assays

カルシウムフラックスアッセイは、Gタンパク質共役受容体（GPCR）をスクリーニングする創薬研究においてよく用いられる方法です。AAT Bioquest[®] 社が提供する Screen Quest[™] カルシウムアッセイキットは、細胞内カルシウム動態を検出するためのホモジニアスな蛍光ベースのアッセイです。目的 GPCR を発現する細胞に、独自の細胞透過性蛍光試薬 Fluo-8[®] AM、Calbryte[™] 520、Calbryte[™] 590 や Rhod-4[™] AM をロードさせ、カルシウム動態を蛍光検出できます。

アッセイは、便利な 96 well または 384 well マイクロタイタープレートフォーマットで実行でき、自動化に適應できます。

Screen Quest[™]
Fluo-8 No Wash Calcium Assay Kit 記事 ID : 35075

概要

本キットは、カインेटリック測定モードを使用せず、細胞内のカルシウム動態を蛍光測定で検出するホモジニアスなアッセイです。組み込み型液体分注器ではない従来の蛍光マイクロプレートリーダーで、底面読み取りモードを使用して測定することができます。目的の細胞に Fluo-8E[™] AM 色素を導入後、外付け液体分注器または手動のピペッティング操作によりカルシウムアゴニストを添加するだけの簡単操作です。Fluo-8E[™] の蛍光シグナルは長時間安定なため、従来の蛍光マイクロプレートリーダーを使った細胞内カルシウム測定の理想的な指示薬です。

- 特長**
- Screen Quest[™] Fluo-8 Medium Removal Calcium Assay Kit
Optimized for Difficult Cell Lines は培地除去ステップにより低バックグラウンド・高感度を実現
 - Screen Quest[™] Fluo-8 No Wash Calcium Assay Kit は 0.5 ~ 1% FBS 入り培養培地のまま測定可能

構成内容

- Component A : Fluo-8 NW
- Component B : 10X Pluronic[®] F127 Plus
- Component C : HHBS (Hanks' buffer with 20 mM Hepes)

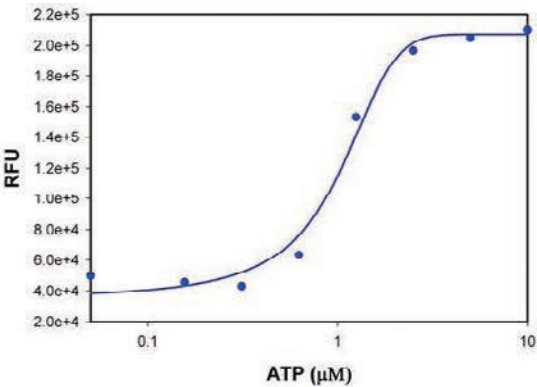


図 5.1 Cell Meter[™] No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答
CHO-K1 細胞の ATP 投与量に応じた細胞内カルシウム応答を Cell Meter[™] No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit (品番 : 36312) を使って測定した。細胞に Fluo-8E[™] AM 色素導入溶液を添加し、37℃で 1 時間培養した。ATP を添加後すぐに CLARIOstar[®] の底面読み取りエンドポイントモードで蛍光強度を測定した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest [™] Fluo-8 Medium Removal Calcium Assay Kit *Optimized for Difficult Cell Lines*	490	525	36307	1 Plate	¥20,000
			36308	10 Plates	¥72,000
			36309	100 Plates	ご照会
Screen Quest [™] Fluo-8 No Wash Calcium Assay Kit	490	525	36314	1 Plate	¥20,000
			36315	10 Plates	¥72,000
			36316	100 Plates	ご照会

Screen Quest™ Calbryte-520 Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit

記事 ID : 33092

概要

本キットは、細胞内カルシウム動態を検出する最も強力なホモジニアスな蛍光ベースアッセイです。キットに同梱の Calbryte™-520NW は AAT bioquest® 社独自の細胞膜透過性蛍光試薬で、ハイスループットスクリーニングに利用できる最も明るい蛍光カルシウムインジケータです。まず、カルシウムを介してシグナル伝達する目的の GPCR を発現する細胞に Calbryte™-520NW をロードします。一度細胞内に入ると、Calbryte™-520NW の親油性ブロック基が非特異的な細胞エステラーゼによって切断され、マイナスにチャージした蛍光色素になります。これがカルシウムと結合することで蛍光強度が増加します。つまり細胞がスクリーニング化合物で刺激を受けると、受容体が細胞内カルシウムの放出を促し、Calbryte™-520NW の蛍光が増強します。Calbryte™-520NW は、その優れた細胞保持力、高い感受性、そしてカルシウム結合時には 100 ~ 250 倍にまで増強するという特長から、細胞内カルシウム測定の理想的なインジケータといえます。Calbryte™-520NW は、細胞内保持力を高めるためのプロベネシドを必要としない唯一のカルシウム色素です。本キットは、脆弱な細胞株の G タンパク質共役受容体 (GPCR) やカルシウムチャネルのモニタリングに最適なアッセイ方法を提供します。

構成内容

- Component A : Calbryte™ 520 NW
- Component B : 10X Pluronic® F127 Plus
- Component C : HHBS (Hanks' buffer with 20 mM Hepes)

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Calbryte-520™ Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit	490	525	36317	1 Plate	¥41,000
			36318	10 Plates	¥146,000
			36319	100 Plates	ご照会

Screen Quest™ Calbryte-590 Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit

記事 ID : 33092

概要

一般的なカルシウム指示薬のスペクトルは緑色蛍光領域にあり、緑色や黄色蛍光の細胞や組織研究には、赤色偏移波長のカルシウム指示薬が強く求められています。ローダミン系カルシウム指示薬 (Rhod-2 AM) は入手可能ですが、染色バックグラウンドが高く、細胞内の望ましくない局在化 (主にミトコンドリア) により、Ca²⁺ と結合したときにローダミンカルシウム色素の感度は低くなります。新規の赤色カルシウム指示薬、Calbryte™ 590 は Rhod-2 よりも赤色偏移した波長領域である Ex / Em = 581 / 593 nm を示します。細胞内に入ると、Calbryte™-520NW の親油性ブロック基が、非特異的な細胞エステラーゼによって切断され、マイナスにチャージした蛍光色素になります。Calbryte™-590 は細胞内カルシウムに結合し、緑色蛍光波長 (FITC チャンネル) とは重ならない明るい赤色蛍光を発します。

本キットは、細胞内カルシウム動態を検出する最も強力なホモジニアスな蛍光ベースアッセイです。脆弱な細胞株の G タンパク質共役受容体 (GPCR) やカルシウムチャネルのモニタリングに最適なアッセイ方法を提供します。96 well、384 well マイクロタイタープレートフォーマットのアッセイが可能で、自動化にも適します。

構成内容

- Component A : Calbryte™ 590 AM
- Component B : 10X Pluronic® F127 Plus
- Component C : HHBS (Hanks' buffer with 20 mM Hepes)

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Calbryte-590™ Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit	573	588	36200	1 Plate	¥62,000
			36201	10 Plates	¥200,000
			36202	100 Plates	ご照会

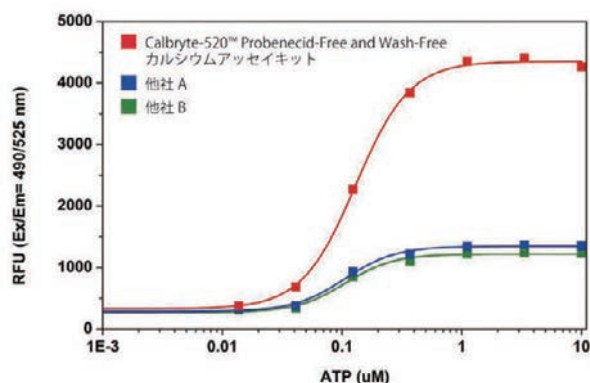


図 5.2 CHO-K1 細胞における内因性 P2Y 受容体の ATP に対する応答比較
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μ l / well) し、一晚培養した。カルシウムフラックスは Screen Quest™ Calbryte-520™ Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit (赤)、他社 A (青)、他社 B (緑) で測定した。ATP (50 μ l/well) は表記濃度になるまで添加した。

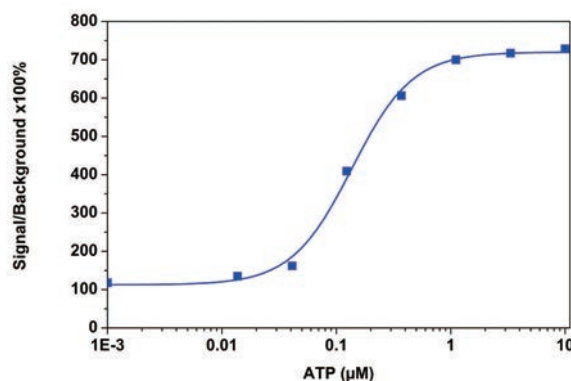


図 5.3 Calbryte 590 Probenecid-Free and Wash-Free カルシウムアッセイキット (品番 : 36201) による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答
CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (50,000 cells / 100 μ l / well) し、一晚培養した。色素添加溶液を 100 μ l 添加し、37℃で 45 分間インキュベート後、続いて室温で 15 分間インキュベートした。

Screen Quest™

Rhod-4 NW Calcium Assay Kit

記事 ID : 1197

概 要

Rhod-4™ は、ハイスループットスクリーニングに利用できる赤色のカルシウムインジケータです。いったん細胞内に入ると Quest Rhod-4™ の親油性ブロッキング基が非特異的な細胞エステラーゼによって切断されマイナスにチャージした蛍光色素となり、カルシウムに結合すると蛍光強度が増します。細胞がスクリーニング化合物で刺激を受けると、受容体が細胞内カルシウムの放出を促し、Rhod-4™ の蛍光が大きく増加します。Rhod-4™ は、その長波長寄りの蛍光波長、高い感受性、そしてカルシウム結合時には 250 倍以上にまで増強するという特長から、細胞内カルシウム測定のための理想的なインジケータといえます。

特 長

- Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *Medium Removal* は培地除去ステップにより低バックグラウンド・高感度を実現
- Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *1% FBS Growth Medium* は 0.5 ~ 1% FBS 入り培養培地のまま測定可能

構成内容

- Component A : Rhod-4 NW
- Component B : 10X Pluronic® F127 Plus
- Component C : HHBS (Hanks' buffer with 20 mM Hepes)

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *Medium Removal*	530	590	36330	1 Plate	¥20,000
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *Medium Removal* *10 plates*	530	590	36331	10 Plates	¥83,000
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *Medium Removal* *10x10 plates*	530	590	36332	100 Plates	ご照会
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *1% FBS Growth Medium*	530	590	36333	1 Plate	¥41,000
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *1% FBS Growth Medium* *10 plates*	530	590	36334	10 Plates	¥104,000
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *1% FBS Growth Medium* *10x10 plates*	530	590	36335	100 Plates	ご照会

Screen Quest™ Fura-2 No Wash Calcium Assay Kit

概 要

本キットは GPCR やカルシウムチャネルを標的としたスクリーニングに利用できるレシオメトリック FLIPR® カルシウムアッセイです。Fura-2 のレシオメトリック特性により、このキットは単一波長の Fluo-4 よりも細胞内カルシウム濃度を正確に測定する理想的なツールとなっています。340 / 380 nm の励起比率を使い、510 nm で蛍光を測定します。

構成内容

- Component A : Fura-2 AM
- Component B : 10X Pluronic® F127 Plus
- Component C : HHBS (Hanks' buffer with 20 mM Hepes)

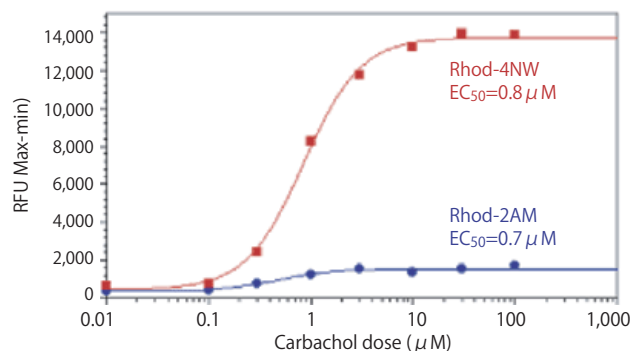


図 5.4 Screen Quest™ Rhod-4 NW Calcium Assay Kit と Rhod-2 AM により測定した HEK-293 細胞におけるカルバコール用量反応

HEK-293 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μl / well) し、一晚培養した。細胞に Screen Quest™ Rhod-4 NW Calcium Assay Kit に使用されている色素導入溶液 100 μl、あるいは Rhod-2 AM 溶液 100 μl (5 μM) を添加し、室温で 1 時間インキュベートした。Rhod-4 NW の EC₅₀ は約 0.6 μM である。

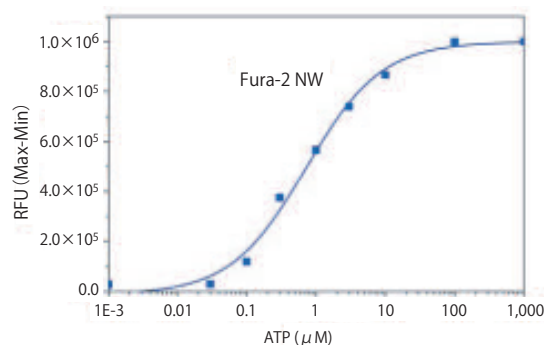


図 5.5 Screen Quest™ Fura-2 No Wash Calcium Assay Kit による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答

CHO-K1 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種 (40,000 cells / 100 μl / well) し、一晚培養した。色素添加溶液を 100 μl 添加し、室温で 1 時間インキュベートした。

次ページに続く

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Fura-2 No Wash Calcium Assay Kit	340/380	510	36320	10 Plates	¥83,000
			36321	100 Plates	ご照会

Endpoint Calcium Assay

Cell Meter™ No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit

記事 ID : 35075

概要

本キットは、カインेटリック測定モードを使用せず、細胞内のカルシウム動態を蛍光測定で検出するホモジニアスなアッセイです。組込型液体分注器ではない従来の蛍光マイクロプレートリーダーで、底面読み取りモードを使用して測定することができます。目的の細胞に Fluo-8E™ AM 色素を導入後、外付け液体分注器または手動のピペティング操作によりカルシウムアゴニストを添加するだけの簡単操作です。本キットで使用している Fluo-8E™ の蛍光シグナルは長時間安定なため、従来の蛍光マイクロプレートリーダーを使った細胞内カルシウム測定の理想的な指示薬です。

構成内容

- Component A : Fluo-8E™ AM
- Component B : 10X Pluronic® F127 Plus
- Component C : HHBS (Hanks' buffer with 20 mM Hepes)

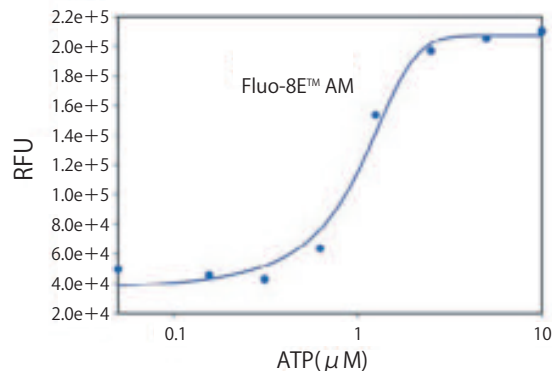


図 5.6 Cell Meter™ No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit (品番 : 36312) による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答
CHO-K1 細胞の ATP 投与量に応じた細胞内カルシウム応答を Cell Meter™ No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit を使って測定した。細胞に Fluo-8E™ AM 色素導入溶液を添加し、37℃で 1 時間培養した。ATP を添加後すぐに CLARIOstar® の底面読み取りエンドポイントモードで蛍光強度を測定した。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Cell Meter™ No Wash and Probenecid-Free Endpoint Calcium Assay Kit	490	525	36312	100 tests	¥83,000

Flow Cytometric Calcium Assay

Cell Meter™

Flow Cytometric Calcium Assay Kit

記事 ID : 35076

概要

本キットは、フローサイトメーターを使用して細胞内カルシウム動態を検出するための蛍光ベースアッセイです。カインेटリック測定モードまたはエンドポイント検出に使用できます。目的の細胞に色素を導入後、細胞を洗浄し、カルシウムアゴニストを加えるだけで、FITC チャンネル (Ex / Em = 490 / 525 nm) をセットしたフローサイトメーターでシグナルを読み取ることが可能です。目的の GPCR を発現する細胞をアゴニストで刺激すると、受容体は細胞内カルシウムの放出をシグナル伝達し、Calbryte™ 520 の蛍光を有意に増加させます。セルソーティング、フローサイトメーターでの細胞内カルシウム動態のモニタリングに使用できます。

構成内容

- Component A : Calbryte™ 520 AM
- Component B : Assay Buffer
- Component C : Probenecid (Optional)
- Component D : HHBS (Hanks' with 20 mM Hepes)

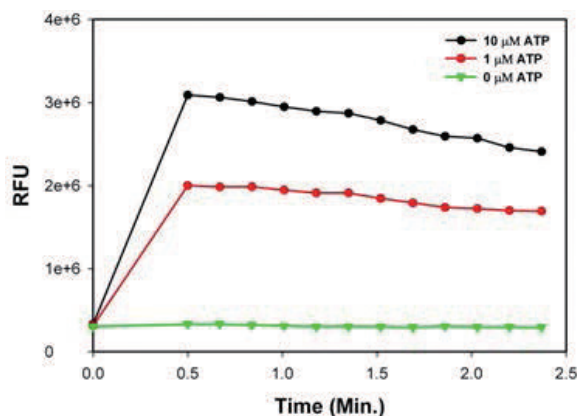


図 5.7 Cell Meter™ Flow Cytometric Calcium Assay Kit による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム動態の時間的変化 (フローサイトメトリ解析)
ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム動態の時間的変化を Cell Meter™ Flow Cytometric Calcium Assay Kit (品番 : 36310) を使って測定した。細胞に Calbryte™ 520 AM 色素導入溶液を添加し、37℃で 30 分間培養し、ATP を添加した。NovoCyt™ 3000 フローサイトメーターを用いてシグナルを測定した。

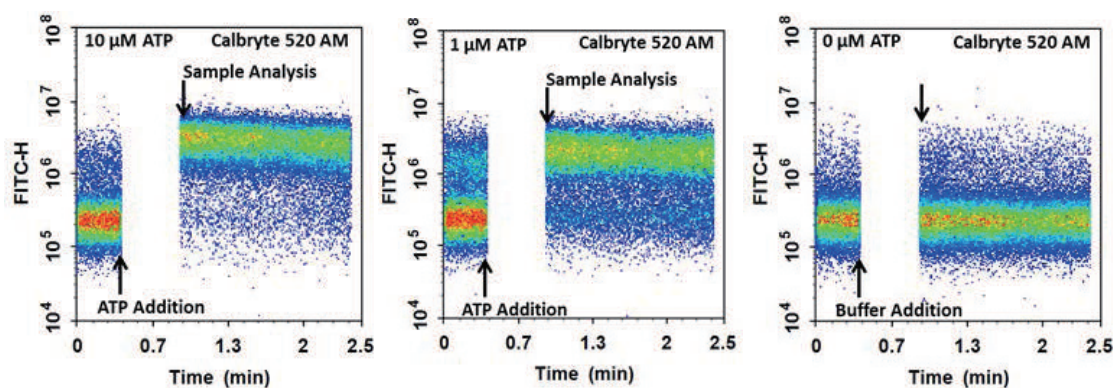


図 5.8 Cell Meter™ Flow Cytometric Calcium Assay Kit による、ATP 刺激した CHO-K1 細胞の継続的細胞内カルシウム応答（フローサイトメトリー解析）

ATP 刺激した CHO-K1 細胞の細胞内カルシウム応答の継続的な変化を Cell Meter™ Flow Cytometric Calcium Assay Kit（品番：36310）を使って測定した。細胞に Calbryte™ 520 AM 色素導入溶液を添加し、37℃で 30 分間培養し、ATP を添加（10 μM、1 μM、または 0 μM）した。ベースラインを取得し、残りの細胞は ATP 添加後、経時的に応答を測定した（NovoCyte™ 3000 フローサイトメータを使用）。グラフ上の矢印は ATP 添加時点と実際の分析時点を示している。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Cell Meter™ Flow Cytometric Calcium Assay Kit	492	514	36310	100 tests	¥104,000

GPCR Cell Lines for Calcium Assays

Screen Quest™ 細胞株は、かつては細胞内カルシウムを介さない G タンパク質共役型受容体（GPCR）を研究する創薬やスクリーニングに使用されてきた一連の細胞株です。これは、ケモカイン、セロトニン、グルタミン酸、ドーパミン、オピオイド、パンプレシン、ならびに α および β アドレナリン受容体ファミリーなどの多くの非 Gq 共役受容体と組み合わせて FLIPR、FDSS システムと共に効果的に使用されてきました。60% 以上の既知の GPCR が Gq 以外の経路を介してシグナル伝達し、これが細胞内カルシウムの増加をもたらします。Screen Quest™ 細胞株は広い受容体特異性を持つ G タンパク質、Gα16 を含む一連の G タンパク質キメラに基づいています。このキメラは、5 カルボキシ末端のアミノ酸が他の G タンパク質の何れか（Gαs、Gαi、Gαo、または Gαz）のものと置換された Gq タンパク質複合体の α サブユニットから構成されています。これらのアミノ酸はその G タンパク質への受容体共役で主要な役割を担います。cAMP 経路を介して作用する特異的な非 Gq 共役受容体とこれらキメラを共発現させると、受容体刺激を受けて細胞内カルシウムシグナルが生じます。特定リガンドによるこれら細胞の特異的な非 Gq 共役受容体の活性は Calbryte™ 520 AM や Cal-520® AM、Fluo-8® AM、Fluo-4 AM といったカルシウム感受性色素を使って検出することが可能です。

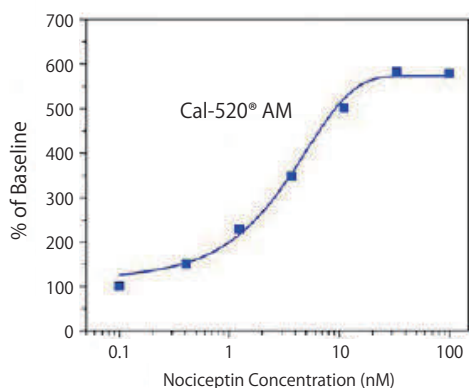


図 5.9 Cal-520® AM（品番：21130）を用いた測定（CHO-Gα16-NOP 細胞におけるノシセプチン刺激性カルシウム応答）

CHO-Gα16-NOP 細胞を 96 well 黒壁 / 透明底 Costar プレートに播種（60,000 cells / 100 μl/well）し、一晩培養した。HHBS に Cal-520® AM（終濃度 10 μM）およびプロベネシド（終濃度 2 mM）を添加した 100 μl の溶液下で細胞を 37℃、1 時間培養した。その後、液をプロベネシド（終濃度 1 mM）を含んだ HHBS で置換した。ノシセプチンを FlexStation®（Molecular Devices）で記載した最終濃度に達するまで添加した。

Live Cell cAMP assay

G タンパク質共役型受容体（GPCR）は最も大きな受容体クラスの一つであり、創薬研究の標的とされています。カルシウムフラックス（Gq 経路を介して共役）アッセイは、創薬研究における GPCR ターゲットのスクリーニングにおいて好まれる手法です。しかし、60% 以上の既知の GPCR が cAMP と共役したアデニル酸シクラーゼ活性を介してシグナルを送ります。既存の cAMP アッセイのほとんどは、細胞の可溶化が必要だけでなく、時間的かつ空間的解像度に欠けています。

Screen Quest™ Live Cell cAMP Assay Service Pack では、細胞の可溶化を行うことなく、ハイスループット形式で細胞内 cAMP 変化をリアルタイムでモニタリングすることが可能です。このアッセイは、外來性環状ヌクレオチド感受性チャネル（CNGC）または Gα16（広い受容体特異性を持つ G タンパク質）の何れかをもち細胞株を介して機能します。前者のチャネルは、細胞内 cAMP レベルの上昇により活性化され、イオンフラックスと細胞膜脱分極が起こるため、これを蛍光カルシウム指示薬（例えば Calbryte™ 520 AM や Cal-520® AM、Fluo-8® AM）または蛍光膜電位色素によって検出します。Gα16 を特定の非 Gq 共役受容体と共発現すると、受容体刺激を受けて細胞内カルシウムシグナルが生じます。Gs や Gi 共役型 GPCR 活性の測定にも問題なく使用されています。

Screen Quest™ Live Cell cAMP Assay Service Pack は AAT Bioquest® が提供している細胞株と FLIPR® や FDSS®, もしくは他の同等の蛍光マイクロプレートリーダーで細胞内 cAMP 変化を測定するための試薬をお客様にお選びいただき、セットで提供するパックです。

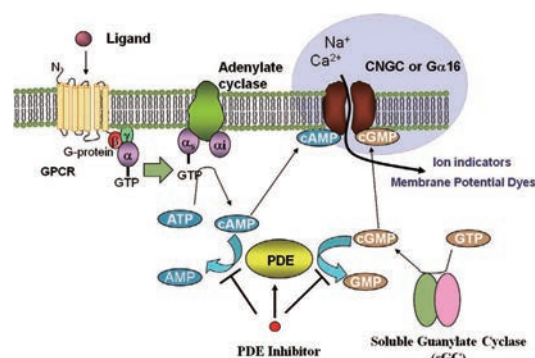


図 5.10 Screen Quest™ Live Cell cAMP Assay の原理

品名	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Live Cell cAMP Assay Service Pack	36382	1 each	ご照会

それぞれ単品でもご購入可能です。

■G タンパク質 (Gα16)、およびノシセプチン受容体 (ORL1) 発現 CHO 細胞株

品名	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Human Nociceptin Receptor Gα16 coupled CHO Cells (NOP-Gα16)	38100	1 vial (2 millions cells)	ご照会

■G タンパク質発現 CHO 細胞株

品名	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ CHO-Gqi Chimera Cell line	38101	1 vial (2 millions cells)	ご照会
Screen Quest™ CHO-Gqo Chimera Cell line	38102	1 vial (2 millions cells)	ご照会
Screen Quest™ CHO-Gqz Chimera Cell line	38103	1 vial (2 millions cells)	ご照会
Screen Quest™ CHO-Gqs Chimera Cell line	38104	1 vial (2 millions cells)	ご照会
Screen Quest™ CHO-Gα16 Chimera Cell line	38105	1 vial (2 millions cells)	ご照会

■G タンパク質共役型受容体 (GPCR) 発現 HEK 細胞株

品名	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Amylin 3 Receptor	38000	1 each	ご照会
Screen Quest™ Cannabinoid Receptor	38001	1 each	ご照会
Screen Quest™ Chemokine (C-C) Receptor 2B	38002	1 each	ご照会
Screen Quest™ Chemokine (C-X-C motif) Receptor 4	38003	1 each	ご照会
Screen Quest™ Dopamine Receptor 1 (DRD1)	38004	1 each	ご照会
Screen Quest™ Glucagon-like Receptor 1 (GLP1R)	38005	1 each	ご照会
Screen Quest™ Opiate Receptor-like 1 (ORL1)	38006	1 each	ご照会

■アッセイキット

品名	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Calbryte-520™ Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit	36318	10 Plates	¥146,000
Screen Quest™ Calbryte-590™ Probenecid-Free and Wash-Free Calcium Assay Kit	36200	1 Plate	¥62,000
	36201	10 Plates	¥200,000
	36202	100 Plates	ご照会
Screen Quest™ Fura-2 No Wash Calcium Assay Kit	36320	10 Plates	¥83,000
	36321	100 Plates	ご照会
Screen Quest™ Fluo-4 No Wash Calcium Assay Kit	36325	10 Plates	¥83,000
	36326	100 Plates	ご照会
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *Medium Removal*	36330	1 kit (1 Plate)	¥20,000
Screen Quest™ Rhod-4 No Wash Calcium Assay Kit *1% FBS Growth Medium*	36333	1 kit (1 Plate)	¥41,000
Screen Quest™ Fluo-8 No Wash Calcium Assay Kit	36314	1 Plate	¥20,000

cAMP & Phosphodiesterase (PDE) Assays

cAMP Assays

環状アデノシンリン酸 (cAMP) は多くの生体プロセスにおいて重要なセカンドメッセンジャーとして働いています。cAMP のモニタリングレベルは GPCR のアゴニストやアンタゴニストをスクリーニングするための一般的な方法の 1 つです。

Screen Quest™ ELISA cAMP Assay

Screen Quest™ ELISA cAMP アッセイは、HRP 標識 cAMP を遊離 cAMP と競合させて cAMP 抗体に結合させることを利用しています。他社の ELISA cAMP アッセイキットと比べ、面倒なアセチル化ステップがありません。

特 長

- 高感度：比色アッセイの場合 0.1 nM の cAMP を検出 / 蛍光アッセイの場合 1 nM の cAMP を検出

構成内容

比色アッセイ

- Component A : cAMP Standard
- Component B : Assay Buffer
- Component C : HRP-cAMP Conjugate
- Component D : 10X Wash Solution
- Component E : Cell Lysis Buffer
- Component F : Anti-cAMP Ab Coated 96-Well Plate
- Component G : Amplitude™ Green

蛍光アッセイ

- Component A : cAMP Standard
- Component B : Assay Buffer
- Component C : HRP-cAMP Conjugate
- Component D : 10X Wash Solution
- Component E : Cell Lysis Buffer
- Component F : 3% H₂O₂
- Component G : Amplitude™ Red
- Component H : Anti-cAMP Ab Coated 96-Well Plate
- Component I : Substrate Buffer

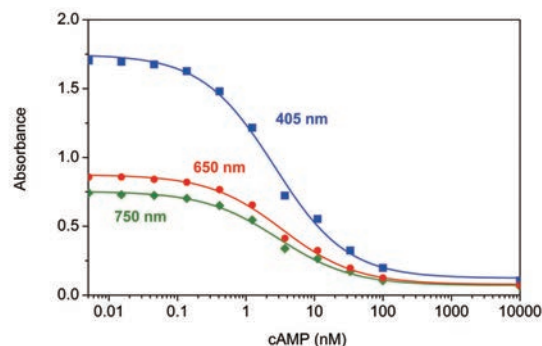


図 6.1 Screen Quest™ Colorimetric ELISA cAMP Assay Kit を用いた cAMP の用量反応測定

96 well クリアプレートを用いて、cAMP 容量反応を SpectraMax® マイクロプレートリーダー (Molecular Devices) で測定した。各吸光度 405、650、750 nm において、100 μl 反応液中のわずか 0.1 nM の cAMP 濃度まで測定可能であった。

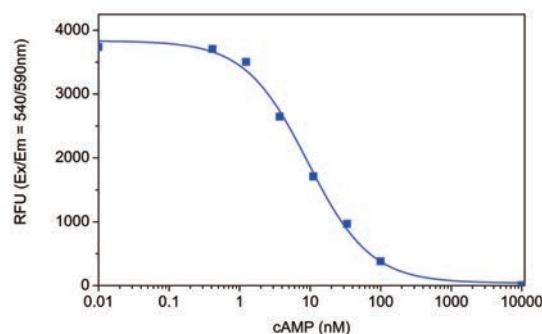


図 6.2 Screen Quest™ Fluorimetric ELISA cAMP Assay Kit を用いた cAMP の用量反応測定

96 well 黒色プレートを用いて、cAMP 容量反応を Gemini マイクロプレートリーダーで測定した。100 μl 反応液中のわずか 0.1 nM の cAMP 濃度まで測定可能であった。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ Colorimetric ELISA cAMP Assay Kit	650	N/A	36370	1 Plate	¥62,000
			36371	10 Plates	ご照会
Screen Quest™ Fluorimetric ELISA cAMP Assay Kit	571	585	36373	1 Plate	¥62,000
			36374	10 Plates	ご照会

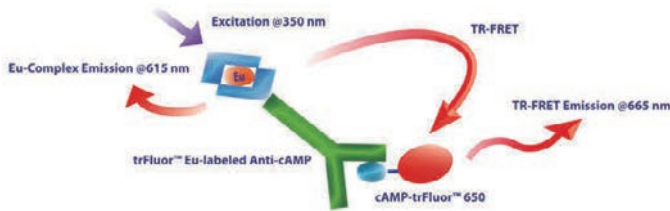
Screen Quest™

TR-FRET No Wash cAMP Assay Kit

記事 ID : 16658

本キットは、G タンパク質共役受容体システムにおけるアデニル酸シクラーゼの活性をモニタリングするための便利なアッセイです。他の cAMP ELISA アッセイキットと比較して、このキットでは洗浄またはアセチル化の工程が不要です。

本アッセイでは蛍光 cAMP トレーサーを遊離 cAMP と競合させて抗 cAMP 抗体に結合させることを利用しています。抗 cAMP 抗体は trFluor™ Eu で標識されており、一方の cAMP トレーサーは trFluor™ 650 で標識されています。サンプル中に存在する遊離 cAMP が trFluor™ Eu 標識抗 cAMP 抗体に結合すると、サンプル中の cAMP 濃度に比例して cAMP-trFluor™ 650 標識 cAMP トレーサーと trFluor™ Eu 標識抗 cAMP 抗体間で FRET が生じます。



構成内容

- Component A : Anti cAMP-trFluor™ Eu
- Component B : cAMP-trFluor™ 650
- Component C : cAMP Standard
- Component D : Cell Lysis Buffer
- Component E : Diluent

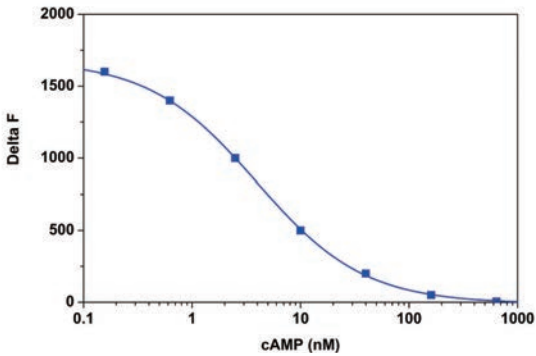


図 6.3 Screen Quest™ FRET No Wash cAMP Assay Kit (品番 : 36380) を用いた cAMP の用量反応測定
CLARIOstar マイクロプレートリーダー (BMG LABTECH 社) で測定した結果、わずか 1 nM の cAMP を検出可能であった。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Screen Quest™ FRET No Wash cAMP Assay Kit	390	650	36379	1 Plate	¥104,000
			36380	10 Plates	ご照会

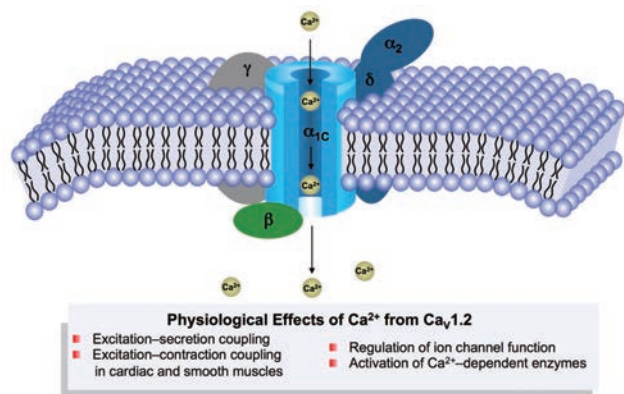
Phosphodiesterase (PDE) Assay

ホスホジエステラーゼ (PDE) は、環状ヌクレオチドである cAMP や cGMP といったセカンドメッセンジャー分子を分解する酵素群であり、セカンドメッセンジャー分子が介在するシグナル伝達の重要な制御因子です。FAM-cAMP PDE IV (品番 : 13602)、TAMRA-cAMP PDE IV (品番 : 13603) 基質は PDE IV 活性の分析に、FAM-cGMP PDE V (品番 : 13604)、TAMRA cGMP PDE V (品番 : 13605) 基質は PDE V 活性の分析に使用できます。これらの基質は FRET アッセイや FP アッセイにおいて抗 cAMP / cGMP 抗体と組み合わせて使用できます。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
FAM-cAMP PDE IV substrate *Green fluorescence*	492	515	13602	0.5 µmol	¥62,000
TAMRA-cAMP PDE IV substrate *Red fluorescence*	552	578	13603	0.5 µmol	¥62,000
FAM-cGMP PDE V substrate *Green fluorescence*	492	516	13604	0.5 µmol	¥62,000
TAMRA-cGMP PDE V substrate *Red fluorescence*	544	575	13605	0.5 µmol	¥62,000

Measurement of Calcium *In Vitro*

カルシウムは全ての生命体において必須であり、特に細胞生理機能の面では、カルシウムイオンの細胞質への移動が様々な細胞プロセスのシグナルとして機能するため非常に重要です。カルシウムはまた、血管の収縮・弛緩、神経活動電位の伝達、筋収縮、およびホルモン分泌を媒介する上で重要な役割を担います。人体においてカルシウムの血清レベル (9 ~ 10.5 mg/dL) は精密に制御されており、低カルシウム血症や高カルシウム血症は重大な医学的疾患です。低カルシウムレベルの要因には、慢性腎不全、ビタミン D 欠乏、および血中の低マグネシウムレベルなどがあります。



カルシウムイオンの生理的効果の例：

興奮による分泌、心臓平滑筋における興奮収縮、イオンチャネル機能の制御、イオンチャネル機能の制御；Ca²⁺ 依存性酵素の活性化

Amplite™ Calcium Assay 記事 ID : 35078

Amplite™ 比色カルシウム定量キットは、生理溶液中のカルシウムを簡便に検出します。本キットは、Calcium Blue™ を発色性カルシウム指示薬として使用し、カルシウム結合に応答して吸光度が変化します。

Amplite™ 蛍光カルシウム定量キットは、AAT Bioquest® 社独自の赤色蛍光プローブ Rhod Red™ 指示薬を使って生理溶液中のカルシウムを検出します。

特長

Amplite™ 比色カルシウム定量キット

- 吸光マイクロプレートリーダーで検出 (検出波長：600 または 650 nm)
- 短時間で測定可能 (指示薬との反応時間は 5 ~ 10 分)
- 96 well または 384 well マイクロタイタープレートフォーマットに適用
- 検出範囲：0.1 ~ 7.5 nMol (2.5 ~ 150 μM カルシウムが入った 100 μL 溶液中)

Amplite™ 蛍光カルシウム定量キット

- 蛍光マイクロプレートリーダーで検出 (Ex / Em = 540 / 590 nm)
- 96 well または 384 well マイクロタイタープレート形式を利用可能 → 自動化に最適
- 短時間で実施可能 (指示薬との反応時間は、5 ~ 30 分)
- 広範な検出範囲：30 μM ~ 10 mM

*より感度の高いカルシウム検出が必要な場合は、代わりに Fluo-8® または Fluo-3® がおすすめです。Fluo-8® と Fluo-3® は何れも nM 領域のカルシウムの測定に利用できます。

構成内容

Amplite™ 比色カルシウム定量キット

- Component A : Calcium Blue™
- Component B : 希釈バッファー
- Component C : 300 mM カルシウムスタンダード

Amplite™ 蛍光カルシウム定量キット

- Component A : Rhod Red™ 指示薬
- Component B : 希釈バッファー
- Component C : 300 mM カルシウムスタンダード

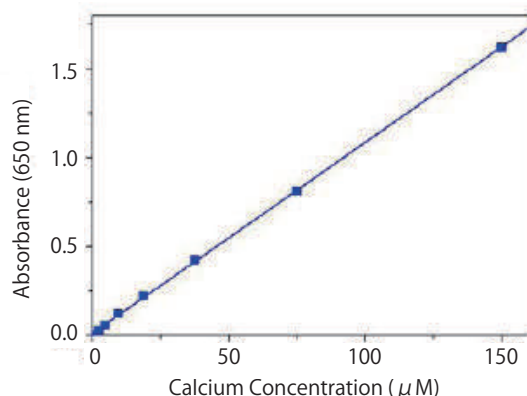


図 7.1 Amplite™ Colorimetric Calcium Quantitation Kit (品番：36361) を使ったカルシウム測定

Amplite™ Colorimetric Calcium Quantitation Kit を使って 96 well 白壁 / 透明底プレート内でカルシウムを測定した。わずか 2.5 μM Ca²⁺ が 5 分間のインキュベーションで検出できた (n=3)。

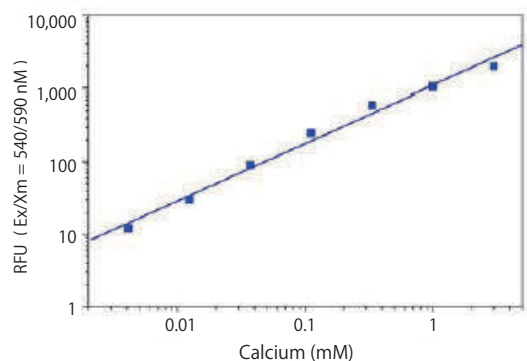


図 7.2 Amplite™ Fluorimetric Calcium Quantitation Kit (品番：36360) を使ったカルシウム測定

Amplite™ Fluorimetric Calcium Quantitation Kit (品番：36360) を使って 96 well 黒色プレート内でカルシウムを測定した。わずか 0.03 mM Ca²⁺ が 5 分間のインキュベーションで検出できた (n=3)。

品名	Ex(nm)	Em(nm)	品番	包装	希望販売価格
Amplite™ Colorimetric Calcium Quantitation Kit *Blue Color*	600 or 650	—	36361	200 tests	¥30,000
Amplite™ Fluorimetric Calcium Quantitation Kit *Red Fluorescence*	540	590	36360	200 tests	¥41,000

オリゴヌクレオチド蛍光標識試薬



California Red™/SunRed™

他社蛍光色素よりも優れた蛍光色素

記事ID 検索 33509

AAT Bioquest 社の California Red™ と SunRed™ は、どちらも脂肪族アミンと特異的に反応するスクシンイミジルエステル色素で、高い標識効率を有し、標識物質の精製がより簡単に行えます。SunRed™ は、優れた水溶性を示し、標識されにくい疎水性オリゴヌクレオチドの標識に非常に有効です。

色素の特徴

色素	California Red™	SunRed™	他社蛍光色素 A
最大吸収波長 (nm)	595	595	594*
最大蛍光波長 (nm)	615	615	613*
吸光係数 (cm ⁻¹ M ⁻¹)	100,000	100,000	100,000
純度	Single Isomer	Single Isomer	Mixture of 3 Isomers
反応基	Succinimidyl Ester	Succinimidyl Ester	Sulfonyl Chloride
水溶性 (pH 7.0)	<1 mg/mL	>10 mg/mL	<1 mg/mL
標識率 (after HPLC Purification)**	57%	56%	21%

* Glycine conjugate, ** Based on the reaction with 2HN-AAACATATAATACGG.

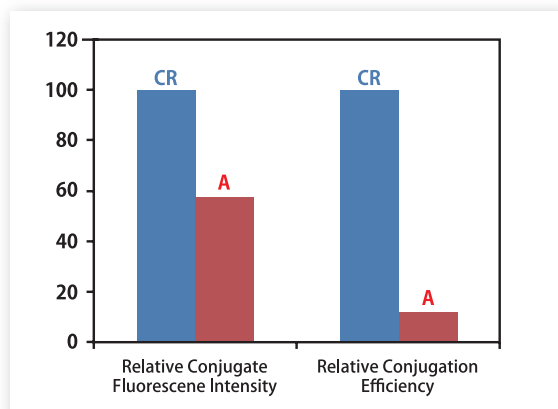


図 1. California Red™ (CA) と 他社蛍光色素 A との標識効率、蛍光強度の比較

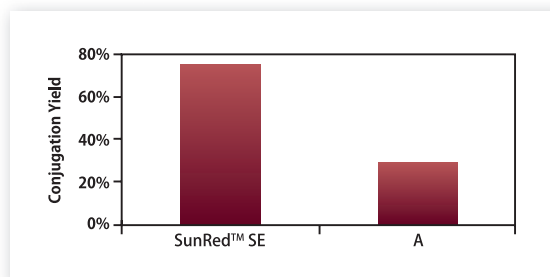


図 2. SunRed™ と他社蛍光色素 A との標識効率の比較
SunRed™ と 他社蛍光色素 A を同一条件下で pH 9.0、1 : 1 モル比で Gly-Gly-Ser-Ser-Arg-Trp にそれぞれ添加した。標識物質は HPLC (C18 逆相カラム使用) で精製した。

AAT Bioquest, Inc. (Former ABD Bioquest, Inc.)

メーカー略号: ABD

品名	Ex (nm)	Em (nm)	EC (cm ⁻¹ M ⁻¹)	CF@280 nm	CF@260 nm	品番	包装	希望販売価格
California Red™ SE	583	603	100,000	0.267	0.456	479	1 mg	¥20,000
						473	5 mg	¥30,000
SunRed™ SE	583	603	100,000	0.18	0.484	478	1 mg	¥20,000
						472	5 mg	¥30,000



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

酸化ストレス検出試薬・アッセイキット

AAT Bioquest 社では、様々な活性酸素種やそれらに関連する生化学分子を高感度 / 選択的に検出する独自の新規蛍光指示薬やキットを提供しています。

- 
- 過酸化水素検出
 - カタラーゼ検出
 - ペルオキシダーゼ検出
 - MDA 定量
 - ヒドロキシラジカル検出
 - スーパーオキシド検出
 - SOD 検出
 - キサンチンアッセイ
 - 次亜塩素酸塩アッセイ
 - トータル ROS 検出
 - チオール検出
 - 一酸化窒素検出
 - ペルオキシナイトライトアッセイ

H_2O_2 | $\text{O}_2^{\cdot-}$ | $\cdot\text{OH}$ | ClO^- | $\text{NO}\cdot$ | $\text{NO}_3^{\cdot-}$ | MDA | RSH

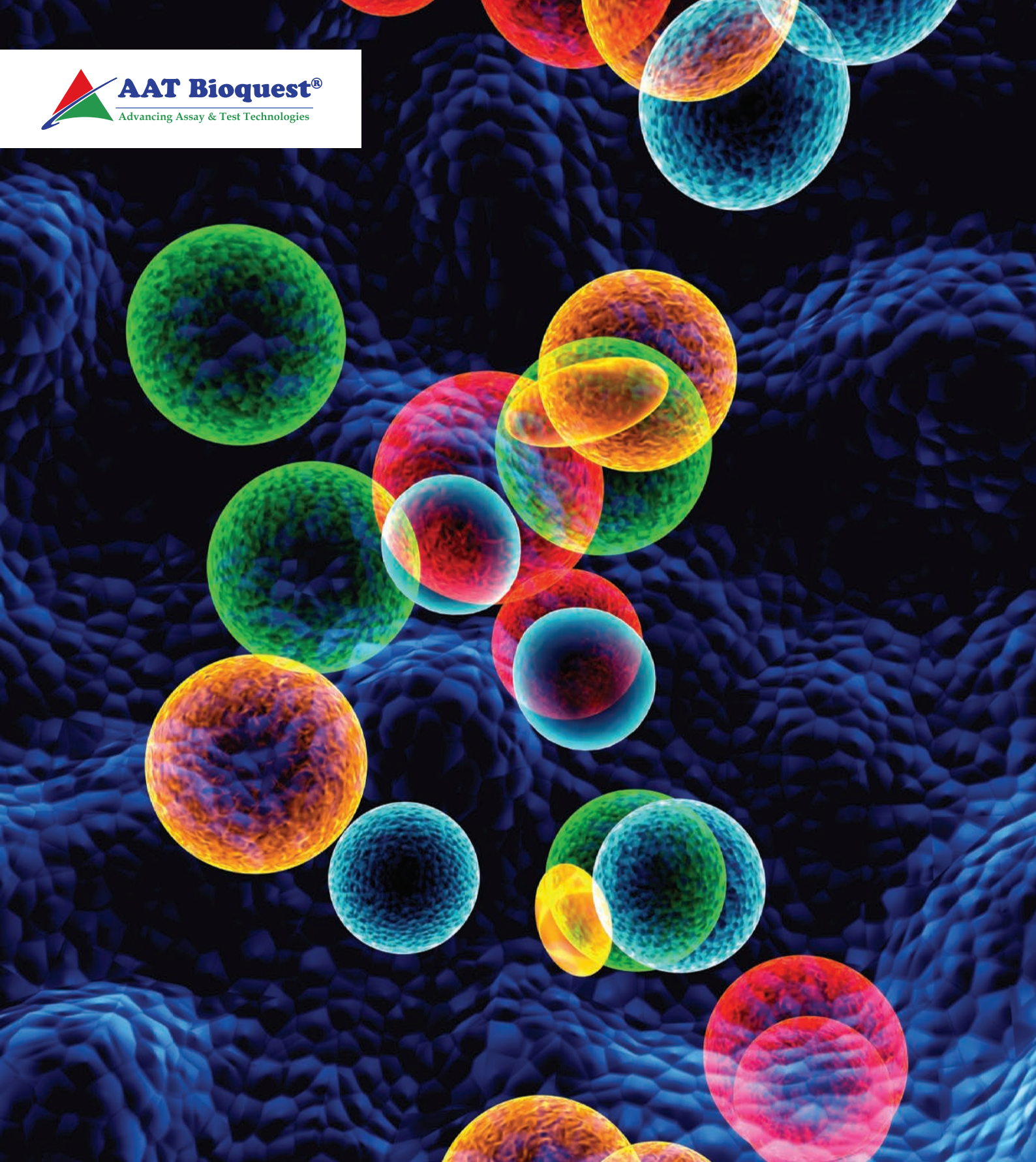
AAT Bioquest 社商品はコスモ・バイオ株式会社よりお届けいたします。

詳細は、コスモ・バイオの Web トップページ「記事 ID 検索」で。 **17684** クリック！



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ TEL: (03)5632-9610
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>
〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル



取扱店

お願い / 注意事項

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。

〔希望販売価格〕 記載の希望販売価格は 2019 年 9 月 1 日現在の価格で、予告なく改定される場合があります。また、「希望販売価格」「キャンペーン中の参考価格」は参考価格であり、販売店様からの実際の販売価格ではございません。ご注文の際には販売店様へご確認くださいませ。表示価格に消費税は含まれておりません。

〔使用範囲〕 記載の商品およびサービスは全て、「研究用」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。

<https://www.cosmobio.co.jp/>



人と科学のステキな未来へ

コスモ・バイオ株式会社

- 商品の価格・在庫・納期に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9630 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9623
- 商品に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9610 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9619

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル