

細胞増殖アッセイキット

WSE-7610

イージーサイトプロリフェレーションキット

EzCyto Proriferation kit

細胞毒性アッセイキット

WSE-7620

イージーサイトLDH サイトトキシシティキット

EzCyto LDH Cytotoxicity kit

細胞障害性／細胞毒性を感度よく精度よく定量

生細胞の代謝活性を指標に細胞の生存率／増殖性を簡単に定量



スピーディーで効率的



シンプルな操作



高感度検出



多検体処理

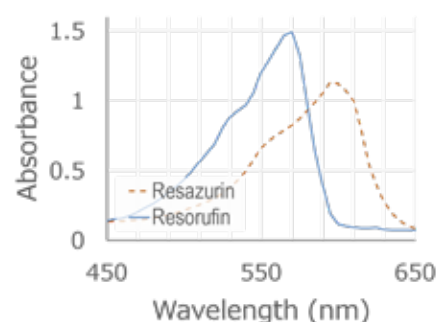
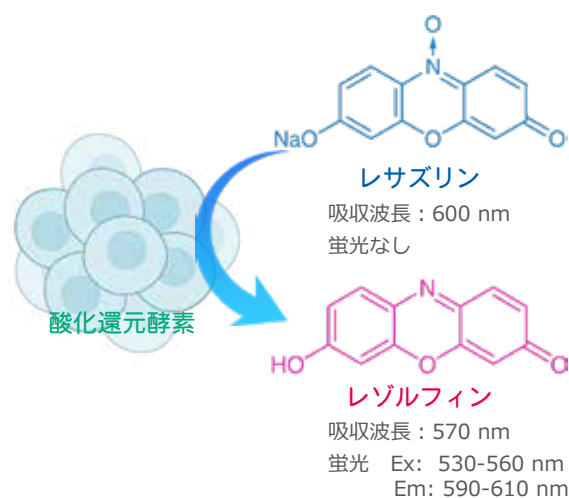


長期冷凍保存可

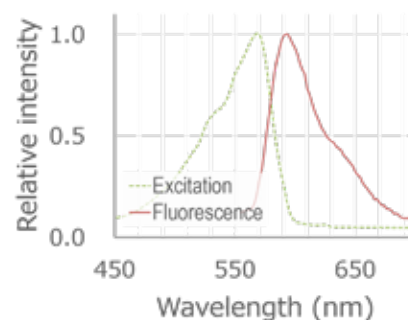
WSE-7610 EzCyto Proriferation kit

製品概要

WSE-7610 EzCyto Proliferation Kit は、生細胞の代謝活性を指標として、細胞生存率や細胞増殖性を簡便かつ定量的に評価できるキットです。培養細胞に試薬を添加して一定時間反応させた後、蛍光強度または吸光度を測定するだけで評価できるため、煩雑な操作を必要とせず、多検体のスクリーニングにも適しています。本キットに含まれる青色のレサズリンは、生細胞内のミトコンドリアや細胞質に存在する酸化還元酵素によって還元され、ピンク色で強い蛍光を示すレゾルフィンへと変換されます。この反応は細胞の代謝活性に依存しており、生成するレゾルフィン量は、生細胞数や細胞の代謝状態に応じて増加します。生成したレゾルフィンの蛍光強度または吸光度を測定することで、生細胞数、細胞生存率および細胞増殖性を定量的に評価できます。蛍光法と比色法の両方に対応しているため、使用する測定機器や実験条件に応じて測定方法を選択できます。



レサズリン/レゾルフィンの吸収スペクトル



レゾルフィンの蛍光スペクトル

特長

- ✓ 生細胞数測定キット
- ✓ 代謝活性に応じた定量的測定が可能
- ✓ 青色で試薬添加を視認しやすく、誤操作を防止
- ✓ 細胞の洗浄・溶解が不要で簡単操作
- ✓ 吸光度（比色）および蛍光検出（高感度）検出が可能
吸光：570 nm / 600 nm
蛍光：Ex: 530-560 nm / Em: 590-610 nm
- ✓ 哺乳類細胞、細菌、真菌、植物細胞の測定が可能
- ✓ Ready-to-use の 1 液試薬システム
- ✓ 冷凍保存、12 ヶ月安定
解凍後、冷蔵で半年間安定に保存可能

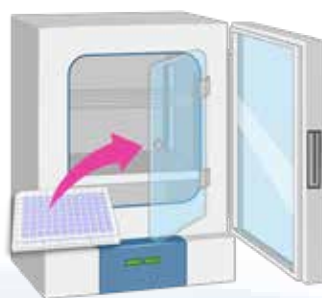
操作手順

1 培養細胞に本試薬を添加



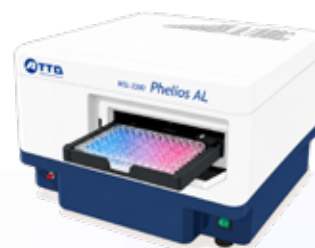
96 ウェルプレートに播種し、一定時間培養した細胞に、EzCyto Proliferation kit を 1/10 容量添加します。

2 インキュベート

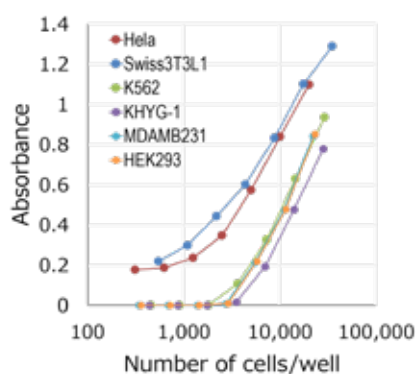


CO₂ インキュベーター内で 1～4 時間インキュベートします。

3 プレートリーダーで測定

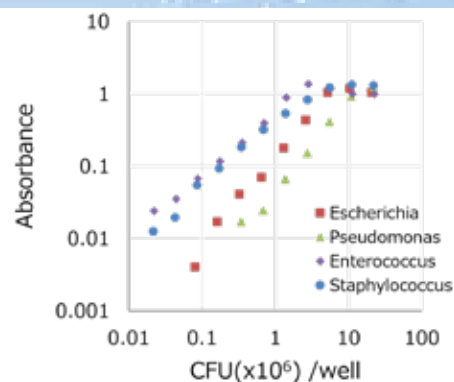


吸光度 570 nm（参照 600 nm）を測定します。または蛍光（Ex/Em）を測定します。



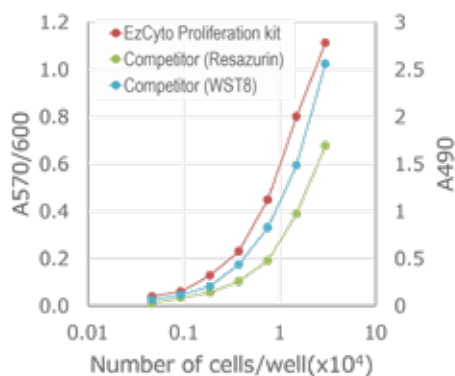
細胞密度依存的な吸光度変化

各細胞株の1/2希釈系列を96ウェルプレートに播種し、本製品を添加して2時間後の吸光度(A570 / A600)を測定しました。いずれの細胞株においても、播種細胞数の増加に伴って吸光度が上昇し、生細胞数に応じたシグナルが得られました。一方、吸光度は細胞種によって異なり、細胞ごとの代謝活性の違いが示されました。



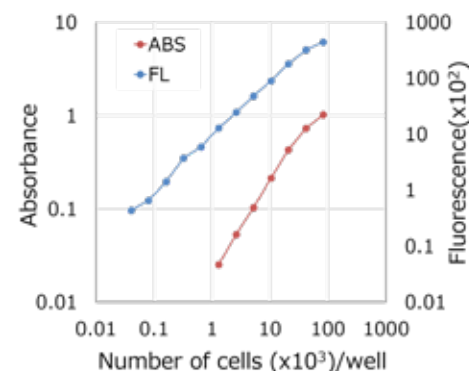
細菌数依存的な吸光度変化

対数増殖期にある *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, および *Staphylococcus aureus* を用い、 $5 \sim 10 \times 10^7$ cells/mL を起点として2倍段階希釈系列を作製しました。各菌液に、EzCyto Proliferation Kit を添加し、3時間後に吸光度を測定した結果を示しています。いずれの菌種においても、播種菌数の増加に伴って吸光度が上昇し、生菌数に応じたシグナルが得られた。



他社製品との比較結果

HepG2 細胞株の1/2希釈系列を96ウェルプレートに播種し、EzCyto Proliferation kit および他社製品を添加して3時間後の吸光度を測定しました。EzCyto Proliferation Kit は他社製品と同等の検出感度を示すとともに、高細胞濃度域においてもシグナルが飽和しにくく、幅広い細胞数範囲で測定できることが示されました。



吸光度と蛍光検出の比較

HeLa 細胞株の1/2希釈系列を96ウェルプレートに播種し、EzCyto Proliferation kit を添加して3時間後の吸光度(570/600)および蛍光(Ex:560/Em:590)を測定しました。その結果、蛍光検出では吸光度検出と比較して20倍以上の高い検出感度を示し、数十個程度の細胞まで検出可能であることが確認されました。

仕様



詳しくはWEBで！



型式・コード
製品名

WSE-7610・2332440
EzCyto Proliferation kit
イージーサイトプロリフェレーションキット

容量(濃度) 25 mL (10 倍濃度)

サンプル数 約 2,500 サンプル

検出試薬 レサズリン

検出方法 【発色】 570 nm (測定波長) / 600 nm (参照波長)
【蛍光】 Ex : 530-560 nm / Em : 590-615 nm

試薬調整 調製不要

使用方法 ① 96 ウェルプレートの場合、100 μ L の培養細胞に 10 μ L の本試薬を添加する。
② CO₂ インキュベータ内で 1 ~ 4 時間反応する。
③ プレートリーダーなどで吸光度または蛍光強度を測定する。

測定対象 哺乳動物細胞、真核細胞、細菌、真菌細胞

保存温度 遮光・冷凍 (−20℃以下) 保存: 製造後 1 年間
遮光・冷蔵 (2 ~ 10℃) 保存: 約 6 か月間
10 回の凍結融解可能

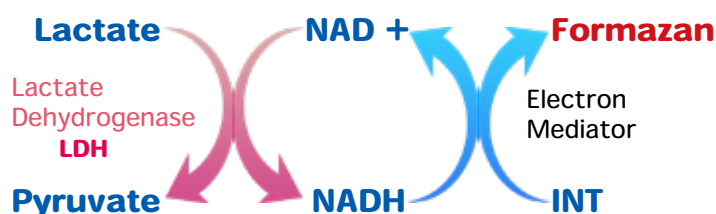
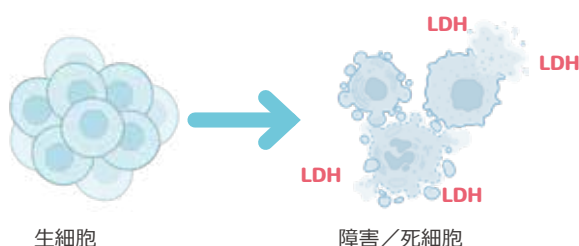
輸送温度 冷蔵または冷凍輸送

価格 ¥12,800

WSE-7620 **EzCyto LDH Cytotoxicity kit**

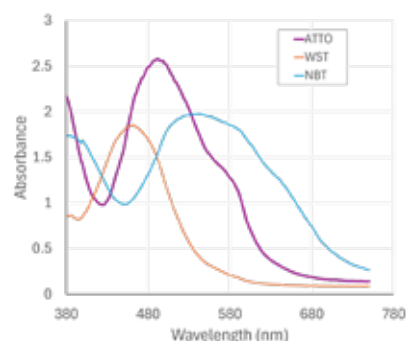
製品概要

WSE-7620 EzCyto LDH Cytotoxicity kit は、細胞傷害により培養液中へ放出された乳酸脱水素酵素（LDH : Lactate Dehydrogenase）の活性を測定し、細胞傷害性を定量的に評価するためのキットです。さらに、付属のレサズリン試薬を使用することで、蛍光法または比色法により、生細胞数および細胞代謝活性を測定できます。LDH 活性と細胞生存性を組み合わせて評価できるため、より多角的な細胞毒性解析が可能です。LDH は細胞質に存在する酵素で、細胞膜が損傷すると培養液中へ放出されます。そのため、培養上清中の LDH 活性を測定することで、NK 細胞や細胞傷害性 T 細胞（CTL）などの免疫細胞による細胞傷害をはじめ、薬剤や化学物質による細胞毒性を評価できます。培養上清中の LDH は、乳酸をピルビン酸へ酸化すると同時に、 NAD^+ を NADH へ還元します。生成した NADH は、電子伝達体を介してテトラゾリウム塩（INT）を還元し、ホルマザン色素を生成します。このホルマザン色素の吸光度を 490 nm 付近で測定することで、培養上清中の LDH 活性を定量できます。生成する色素量は放出された LDH 量に比例するため、細胞傷害の程度を定量的に評価できます。



特長

- ✓ 細胞毒性／細胞障害性（死細胞）測定キット
- ✓ 比色法（吸光度）で定量的に測定
吸光度：490nm、参照波長：680 nm
- ✓ 細胞の洗浄や溶解は不要
- ✓ 細胞毒性評価・薬剤スクリーニングに最適
- ✓ 生細胞アッセイ試薬（レサズリン）添付
- ✓ タイムコースアッセイも可能
- ✓ 2液試薬システムで長期安定保存
冷凍保存で 12 ヶ月安定、冷蔵保存で 3 ヶ月安定



主要なホルマザンの吸収スペクトル

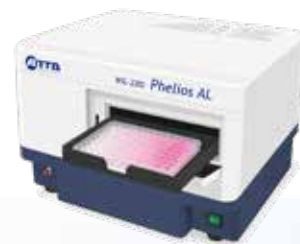
ATTO: EzCyto LDH cytotoxicity kit. INT を使用。
ピーク波長：490 nm

操作手順

- 1 Reagent 1 と 2 を混合
- 2 培養上清回収 & 試薬添加
- 3 10 分反応⇒反応停止
- 4 プレートリーダーで測定



Reagent 1 Reagent 2



LDH Reagent 1 (5 mL) と LDH Reagent 2 (1 mL) を 1 本ずつ混合して LDH Working Solution を調製します。

培養上清を回収し※、100 μL のサンプルに 50 μL の LDH Working Solution を添加します。
※培養細胞に直接添加しても同様の結果が得られます。

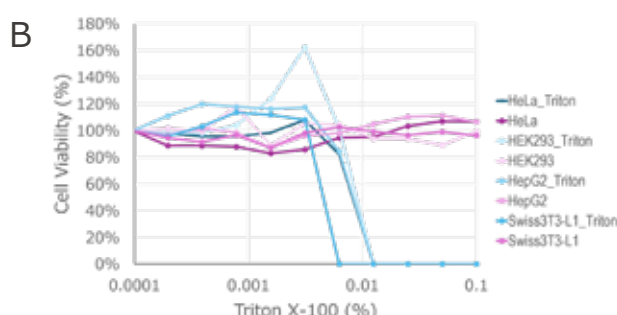
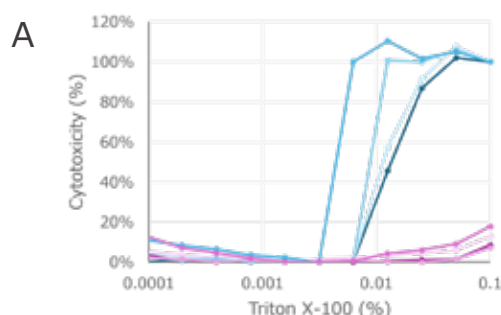
室温で 10 ~ 30 分間反応します。LDH Stop Solution を 50 μL /well で添加する

吸光度 490 nm (参照波長 680 nm) を測定します。

データ例

薬剤・化学物質を用いた細胞毒性試験

各種細胞を96ウェルプレートに20,000 cells/wellで播種し、翌日、Triton X-100を終濃度0.1%を起点とした1/2希釈系列で添加しました。4時間培養後、Triton X-100を添加した処理群（青系色）と添加しない未処理群（紫系色）を設定して、さらに30分間培養しました。その後、培養上清を回収してEzCyto LDH Cytotoxicity kitによるLDHアッセイを実施し（A）、ウェル内に残存した細胞を用いてEzCyto Proliferation kitによるレサズリンアッセイを行いました（B）。



(A) EzCyto LDH cytotoxicity kit による LDH 活性測定に基づく細胞障害率

LDH 活性は、490 nm の吸光度から 680 nm の吸光度を差し引いた値として算出し、1% Triton X-100 処理群の測定値を細胞障害率 100% として（青系色）算出しました。細胞株ごとの感受性が異なるものの、いずれの細胞株においても、Triton X-100 濃度の上昇に伴って LDH 活性が増加し、細胞障害率も上昇することが示されました。

(B) EzCyto Proliferation kit によるレサズリンアッセイに基づく生存率

レサズリンアッセイは、570 nm の吸光度から 600 nm の吸光度を差し引いた値として算出し、Triton X-100 無添加群の測定値を細胞生存率 100% として（紫系色）、各条件の細胞生存率を算出しました。レサズリンアッセイでは、LDH アッセイと対照的な濃度依存性が認められ、Triton X-100 濃度の上昇に伴って細胞生存率が低下しました。

これらの結果から、LDH アッセイによる細胞膜障害率の結果と、レサズリンアッセイによる生存率の結果が対称的であり、互いに対応する結果を示すことが確認されました。

仕様



詳しくはWEBで！

型式・コード
製品名

WSE-7620・2332442
EzCyto LDH Cytotoxicity kit
イージーサイト LDH サイトトキシシティキット

構成

- ① LDH Reagent 1: 5 mL × 2 本
- ② LDH Reagent 2: 1 mL × 2 本
- ③ LDH Lysis Solution: 4 mL
- ④ LDH Stop Solution: 12 mL
- ⑤ LDH Positive Control: 0.05 mL (10kU/mL)
- ⑥ Resazurin Reagent: 1.2 mL × 2 本

サンプル数

約 200 サンプル

呈色試薬

INT (Iodonitrotetrazolium Chloride)

測定波長

【発色】 490 nm (測定波長) / 680 nm (参照波長)

試薬調製

- ① LDH Reagent 1 (5 mL) と② LDH Reagent 2 (1 mL) を 1 本ずつ混合して LDH Working Solution を調製する。

使用方法

- ① 100 μL のサンプルに 50 μL の LDH Working Solution を添加する。
- ② 室温で 10 ~ 30 分間反応する。
- ③ LDH Stop Solution を 50 μL/well で添加する
- ④ プレートリーダーなどで吸光度 (490 / 680 nm) を測定する。

測定対象

哺乳動物細胞

保存温度

遮光・冷凍 (−20℃以下) 保存: 製造後 1 年間
遮光・冷蔵 (2 ~ 10℃) 保存: 約 3 か月間
※調整後の LDH Working Solution は冷凍 (−20℃以下) で約 4 週間、
冷蔵 (2 ~ 10℃) で約 2 週間保存可能です。

輸送温度

冷蔵または冷凍輸送

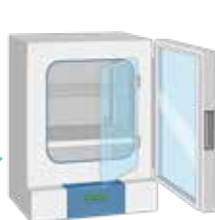
価格

¥15,800



細胞媒介性細胞傷害試験

NK 活性測定の標的細胞として広く用いられている K562 細胞をターゲット細胞とし、NK 白血病由来の NK (Natural Killer) 細胞株である KHYG-1 細胞をエフェクター細胞として、NK 細胞傷害性モデル試験を実施しました。KHYG-1 細胞を 200,000 cells/well を最高細胞数とする 2 倍希釈系列で播種した後、各ウェルに K562 細胞を 20,000 cells/well となるよう添加し、混合培養しました。K562 細胞を添加しない対照ウェルには、同量の培地を添加しました。24 時間培養後、各ウェルから培養上清 100 μ L を回収して EzCyto LDH Cytotoxicity kit による LDH アッセイを実施し、ウェル内に残存した細胞を用いて EzCyto Proliferation kit によるレサズリンアッセイを行いました。

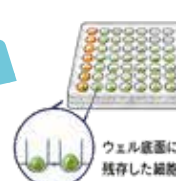
1 エフェクター細胞を播種
(KHYG-1 細胞 全ウェル添加)2 ターゲット細胞の添加
(K562 細胞 半分のウェル添加)3 24 時間培養
(CO₂ インキュベーター内で)

4a 培養上清回収

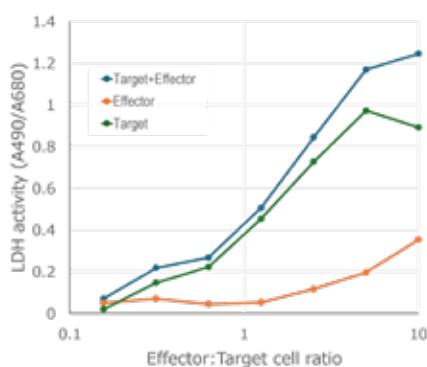


LDH assay
EzCyto LDH Cytotoxicity kit

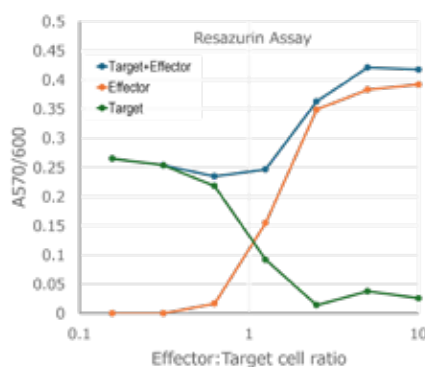
4b ウェル内残存細胞



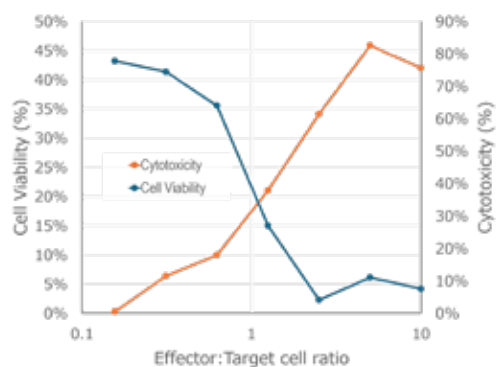
Resazurin assay
EzCyto Proliferation kit



A. EzCyto LDH cytotoxicity kit による LDH 活性測定の結果



B. EzCyto Proliferation kit による レサズリンアッセイの結果



C. ターゲット細胞の細胞障害率と細胞生存率

(A) EzCyto LDH cytotoxicity kit による LDH 活性測定の結果

エフェクター細胞単独の LDH 活性は全体として低値を示しましたが、細胞数が最も多い条件では、過密培養の影響による LDH 活性の上昇が認められました (A)。一方、ターゲット細胞を含む共培養条件では、K562 細胞数が一定であるにもかかわらず、エフェクター細胞数の増加に伴って LDH 活性が上昇しました (A)。また細胞障害率は、K562 細胞に対する KHYG-1 細胞の比率 (E/T 比) の上昇に伴い、段階的に増加しました (C)。KHYG-1 細胞の細胞傷害作用によって K562 細胞の障害および細胞死が誘導され、細胞内 LDH が培養上清中へ放出されたことで、LDH 活性が上昇したと考えられます。

(B) EzCyto Proliferation kit によるレサズリンアッセイの結果

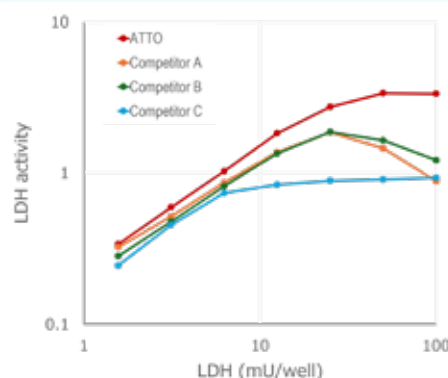
エフェクター細胞数の増加に伴い、レサズリンアッセイの値は低下し (B)、それに対応してターゲット細胞の生存率も低下しました (C)。これは、NK (Natural Killer) 細胞株である KHYG-1 細胞 (エフェクター細胞) による細胞障害作用により、生存する K562 細胞 (ターゲット細胞) の数が減少し、その結果、レサズリンアッセイの値が低下したためと考えられます (B)。

以上より、EzCyto LDH Cytotoxicity kit (LDH アッセイ) による細胞障害性評価と EzCyto Proliferation kit (レサズリンアッセイ) による細胞生存率評価が整合性のある結果を示し、これらの試薬キットにより KHYG-1 細胞による K562 細胞に対する NK 細胞傷害活性を適切に評価できることが確認されました。



市販 LDH アッセイキットとの測定性能比較

LDH 標準液の 1/2 希釈系列を用い、市販 3 製品と WSE-7620 EzCyto LDH cytotoxicity kit の測定性能を比較しました (D)。いずれの試薬も低濃度領域では良好な感度を示しましたが、一部の市販品では高濃度領域でシグナルの飽和が認められました。一方、WSE-7620 EzCyto LDH cytotoxicity kit は高濃度 LDH でも直線性を維持し、広いダイナミックレンジを示しました。低濃度では市販品と同等の感度を保ちながら、高濃度試料も希釈せず測定できる可能性が確認されました。



D. EzCyto LDH cytotoxicity kit と市販のキットによる LDH 活性測定の結果

吸光度・発光測定プレートリーダー

WSL-2300 Phelios AL フェリオス AL



Phelios AL 本体

オプション品

Nano Volume Plate



WSL-2300 Phelios AL は軽量・コンパクトなボディに、波長200~999nmの範囲で吸光度測定、カインेटクス測定、スペクトル測定、エリアスキャン、さらに発光測定※も可能なマルチファンクショナルなプレートリーダーです。計測容器は6/12/24/48/96/384ウェルプレートに対応するマルチプレートフォーマットです。定量的に解析する「Quantitative解析モード」を使用すれば、面倒な標準曲線作成も、濃度換算も、測定と同時に自動で行われ、その解析結果はエクセル形式で保存できます。また定性的に解析する「Qualitativeモード」を使えば、カットオフ値の設定により標的分子の陽性・陰性判定ができます。さらにオプションの「Nano Volume plate」を使用すると、2 μ Lの微量サンプルから、一度に24検体の吸光度/スペクトル測定が可能になります。

※発光測定は製品コード3602300または3602301の2タイプのみ対応可能です。



Phelios AL ソフトウェア



詳しくは WEB で！

仕様

型式・名称	WSL-2300 Phelios AL フェリオス AL	
測定タイプ	吸光度 (ABS)・発光 (LUMI)	吸光度 (ABS)
コード	3602300/3602301	3602350/3602351/3602352
測定方式	吸光度測定：フォトダイオード 発光測定：光電子増倍管	吸光度測定：フォトダイオード
測定モード	吸光度測定：①エンドポイント②カインेटクス ③スペクトル④エリアスキャン 発光測定：①エンドポイント②カインेटクス 微量吸光度測定※：①エンドポイント③スペクトル	吸光度測定：①エンドポイント②カインेटクス ③スペクトル④エリアスキャン 微量吸光度測定※：①エンドポイント③スペクトル
検出感度	吸光度測定：0 ~ 4.0 O.D. 発光測定：10 ⁻¹⁸ mole ATP (ダイナミックレンジ > 8 桁)	吸光度測定：0 ~ 4.0 O.D.
測定容器	6 / 12 / 24 / 48 / 96 / 384 ウェルプレート	6 / 12 / 24 / 48 / 96 / 384 ウェルプレート
Nano Volume Plate※	3 × 8 (24 検体)	3 × 8 (24 検体)
検出器 1：吸光用 / 波長	フォトダイオード / 200 ~ 999nm	フォトダイオード / 200 ~ 999nm
検出器 2：発光用 / 波長	光電子増倍管 / 300 ~ 700nm (極大 420nm)	—
波長分離方式	モノクロメータ (1nm ステップ)	モノクロメータ (1nm ステップ)
吸光度測定用光源	キセノン	キセノン
攪拌機能	あり：0 ~ 180 秒 (2 段階スピード)	あり：0 ~ 180 秒 (2 段階スピード)
専用アプリケーション	計測条件設定・測定・データ保存・データ解析	計測条件設定・測定・データ保存・データ解析
対応 OS	Windows 11	Windows 11
外部接続端子	USB × 1	USB × 1
寸法・質量	335mm(W) × 305mm(D) × 232mm(H)・7.0kg (AC アダプター 0.5kg)	335mm(W) × 305mm(D) × 232mm(H)・7.0kg (AC アダプター 0.5kg)
電源・消費電力	DC24V・40W	DC24V・40W
AC アダプター	入力：AC100 ~ 240V 50/60Hz 140VA 出力：DC24V 65W	入力：AC100 ~ 240V 50/60Hz 140VA 出力：DC24V 65W
標準構成品	WSL-2300 Phelios AL 本体 USB ケーブル (A-B タイプ) AC アダプター + AC ケーブル 発光測定用サポートプレート USB メモリ (付属ソフトウェア) 取扱説明書	WSL-2300 Phelios AL 本体 USB ケーブル (A-B タイプ) AC アダプター + AC ケーブル USB メモリ (付属ソフトウェア) 取扱説明書

※ Nano Volume Plate (微量測定用プレート) はオプション品になります。

ご用命は下記販売店までお願い致します。

	アトー株式会社
	■東京本社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2 ☎ (03)5827-4861 📠 (03)5827-6647
	■大阪支店 〒530-0044 大阪市北区東天満2-8-1 若杉センタービル別館 5F ☎ (06)6136-1421 📠 (06)6356-3625
	■メンテナンスサービス 〒110-0016 東京都台東区台東2-21-6 ☎ (03)5818-7567 📠 (03)5818-7563
■URL https://www.atta.co.jp/ お問い合わせ WEB会員登録の上お問い合わせフォームより	