

近赤外発光計測対応ルミノメーター

AB-2280 Luminescencer NIR

活性酸素測定用 近赤外発光プローブ

AB-2980 NIR-CLA

抗酸化能測定キット

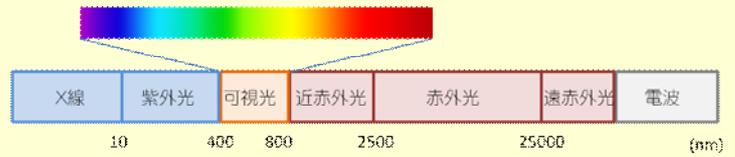
AB-2970 CLETA-S



近赤外発光プローブ NIR-CLA

近赤外光とは？

手のひらを太陽にわざわざ見ると、手のこうから指にかけて赤く透けて光って見えます。これは、手を通り抜けてきた近赤外光と赤外光を見ているからです。近赤外光は可視光よりも長波長の700-2500nmの波長域の光で、血液や皮膚等による光の吸収や散乱の影響を受けにくい光です。このように近赤外光は生体組織や物質を通り抜けることができるため、赤外線通信や暗視カメラ、サーモグラフィなどに利用されています。



全血サンプル中の活性酸素測定を可能にする発光プローブ ~NIR-CLA~

活性酸素は様々な分子と非特異的に反応して酸化するため、細胞傷害性が高く、癌や生活習慣病、老化の原因の一つと考えられています。活性酸素は不安定で反応性が高いため、酸化代謝産物(ヒドロペルオキシドなど)の検出やプローブにより間接的に検出されます。しかし、血液のような高濃度で色の濃いサンプルの場合、光の散乱や吸収のためにプローブによる活性酸素の検出は困難であり、サンプルの前処理が不可欠でした。

新しい発光プローブの「NIR-CLA」はスーパーオキシドアニオン (O_2^-) と反応して波長800nmの近赤外光を生じます。血液中のヘモグロビンは650nm以下の光を吸収するため、発光のピークが500nm以下の「MCLA」や「ルミノール」などの発光試薬は使用できません。「NIR-CLA」も血液中のヘモグロビンによる光吸収の影響を受けるものの、全体の20%程度が血液中を透過するため、血液中のスーパーオキシドアニオンを効率よく検出することが可能です(図1)。

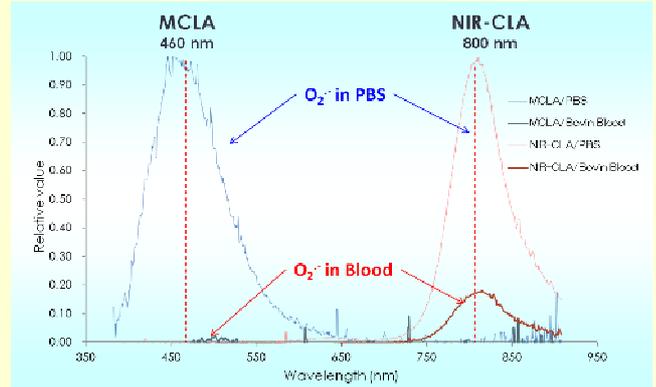


図1 MCLAとNIR-CLAとの発光スペクトルと透過効率の違い

血液中の好中球(白血球)による活性酸素の測定

活性酸素は、生体防御システムの一つであるマクロファージや好中球による異物・細菌の分解に関与していることが知られています。

~血液サンプルを用いた活性酸素のモニタリング~

図2は血液中で発生させた活性酸素の測定方法を簡単に示しています。従来法では、刺激応答実験を行う際に、血球単離等の血液の前処理が必要でした。しかし、NIR-CLAは血液からダイレクトに活性酸素をモニタリングできるため、前処理は必要ありません。より簡単に、短時間で、しかもネイティブに近いサンプルの状態での活性酸素の刺激応答実験を行うことができます。

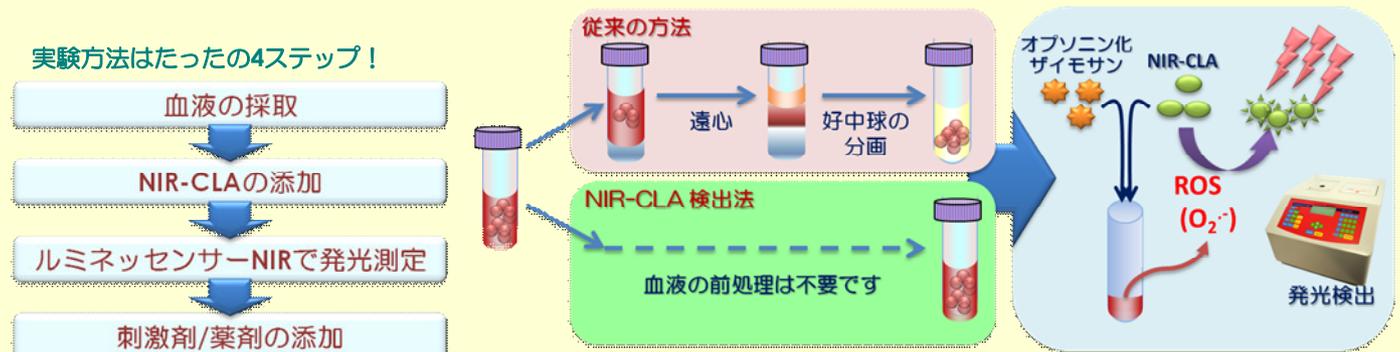


図2 血液中の活性酸素測定

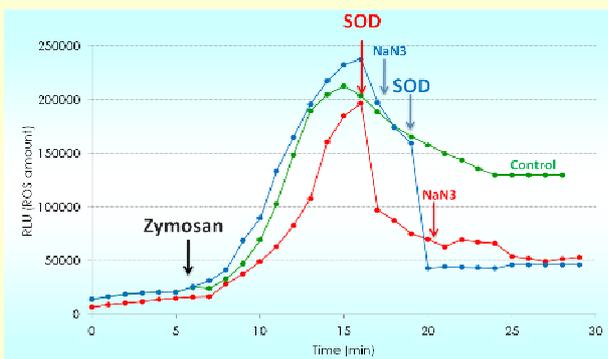
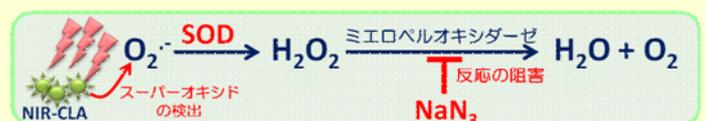


図3 ヒト全血中の活性酸素モニタリング

図3は ゼイモサン刺激後のヒト全血中の O_2^- 発生量をNIR-CLAを用いて検出した結果です。 O_2^- の分解を触媒するSODの添加により発光が急激に消失し、さらに H_2O_2 の分解を阻害しても発光に影響がないため、NIR-CLAは O_2^- 特異的に反応することが示されました。



<データご提供> 三重大学 大学院生物資源学研究所
生物圏生命科学専攻 生命機能科学講座 寺西克典先生

Luminescencer NIR

ルミネッセンサーNIRの検出感度とダイナミックレンジ

ルミネッセンサーNIRは近赤外発光プローブの検出を目的に開発されましたが、通常のルミノメータと比較しても遜色のない優れた性能を発揮します。もちろん検出感度が高くダイナミックレンジが広いことから、様々な研究用途に適しています。さらに検出可能な波長域が350~900nmと非常に広いことから、表1に示した市販されている全ての発光プローブの検出に対応しています。

図7はルシフェラーゼアッセイ、図8はATPアッセイを行って、検出感度とダイナミックレンジをルミネッセンサーNIRで測定した結果です。ルミネッセンサーNIRにより、ルシフェラーゼは少なくとも12moles(10^{-21} moles)、またATPは少なくとも10amoles(10^{-17} moles)まで検出することが可能であり、直線性ダイナミックレンジは $\log_8 <$ であることが示されました。

従来のAB-2270 Luminescencer Octaに匹敵する検出感度とダイナミックレンジを備え、さらに近赤外にまでおよぶ広い波長領域の発光を検出することが可能です。

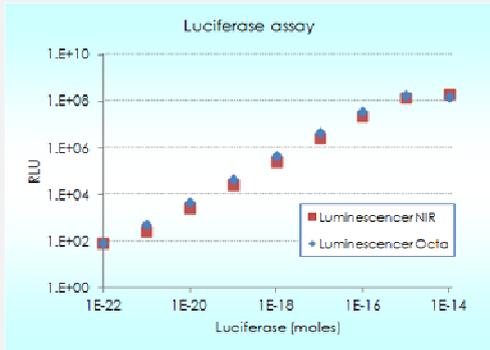


図7 ルシフェラーゼアッセイ

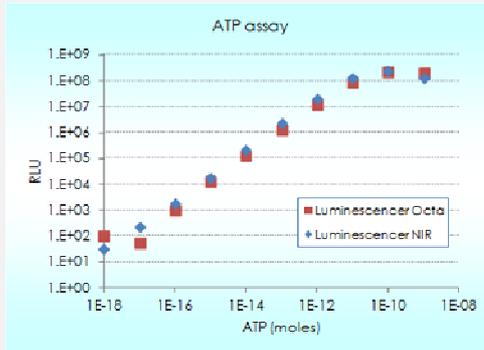


図8 ATPアッセイ

表1 発光プローブ

Probes	Peak (nm)
Luminol	425
MPEC	430
MCLA	465
Renilla luciferase	480
Emerald luc	538
Firefly luciferase	565
CBRLuc	630
NIR-CLA	800

発光検出による抗酸化能の測定

お茶やフルーツに含まれるカテキン、ビタミン、ポリフェノールなどの成分には、活性酸素を消去する「抗酸化能」があります。アトーが提供する「クレタS」は抗酸化能を簡単に発光で検出・測定できるキットです。原理はキサンチンとキサンチンオキシダーゼの反応により発生したスーパーオキシドアニオンを、抗酸化物質の処理によりどれだけ消去されるかを発光プローブ(MPEC)により検出して、抗酸化能を評価します。

図5はお茶とフルーツの抗酸化能を比較した結果であり、お茶が最も抗酸化能が高いことが示されています。また図6は抗酸化物質の濃度依存的に抗酸化活性が高くなることを示しています。このように「クレタS」は抗酸化能を簡単に、検出感度よく、定量的に評価することができるキットです。

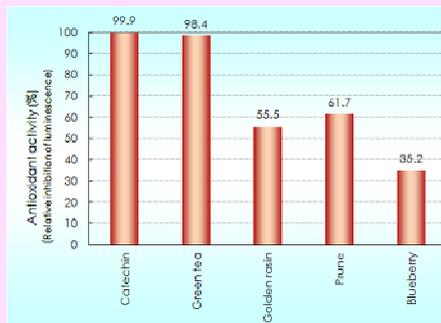


図5 お茶とフルーツの抗酸化能測定

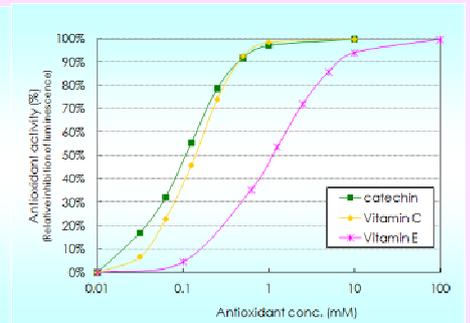


図6 抗酸化能の濃度依存性

リンパ系細胞を用いた活性酸素の測定

DMSO処理により好中球様細胞に分化誘導したHL60細胞を、細胞傷害誘導物質であるホルポールエステル(PMA)あるいはスタウロスポリン(STS)で刺激し、発生した活性酸素量をNIR-CLAにより発光検出し、ルミネッセンサーNIRで測定しました。その結果、PMA刺激によりHL60細胞は活性酸素の発生が誘導されることが示されました。SOD処理により発光が消失することからNIR-CLAがスーパーオキシドアニオン特異的に反応することが判ります。一方、STSによりHL60細胞を刺激しても、活性酸素は発生しないことが示されました。NIR-CLAは、このような細胞株を用いたストレス応答実験にもご利用いただけます。

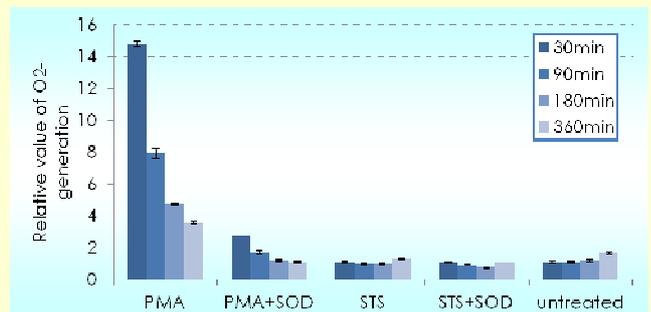


図4 HL-60細胞の活性酸素測定

Luminescencer NIR

型式・名称	AB-2980 NIR-CLA (活性酸素測定用 近赤外発光試薬)
物質名	インドシアニン型 イミダゾピラジノン化合物
分子量、極大発光波長	1156 Dalton, 約800 nm
容量	0.1 mg (粉末)、-80°C保存
型式・名称	AB-2970 CLETA-S (抗酸化能測定キット)
キット内容 ()内は主成分を表示	発光試薬溶液 (MPEC) 基質溶液 (Xthantine) 酵素溶液 (Xthantine oxidase)
容量	100検体分、4°Cおよび-20°Cで保存
型式・名称	AB-2280 ルミネッセンサーNIR/AB-2270 ルミネッセンサーOcta
測定容器	φ12×55 mmチューブ/1.5 mL遠心チューブ
検出器	光電子増倍管 (PMT)
計測方法	光電子増倍管によるフォトンカウンティング方式
測定波長 (全光測定時)	350~900 nm (AB-2280)/350-670 nm (AB-2270)
色分離機構	フィルター自動切替機構測定により、最大3色まで分離可能
分注ポンプ	プランジャー型1台内蔵 (25~300 μL)、25 μLステップ
プリンタ	24桁サーマルプリンタ内蔵
温調機能	室温+5~40°C (オプション)
データ保存	計測結果200ファイル保存可能 キャリブレーション9ファイル保存可能 データ転送プログラムによるPCへの保存可能
サイズ・質量	250(W)×310(D)×176(H) mm・7.5 kg
電源	AC100 V 50/60 Hz 50 VA

AB-2270 Luminescencer OCTA
Tube type luminometer



AB-2350 PHELIOS
96/384 well plate luminometer



AB-2550 KronosDio
Luminometer for live-cell & tissues



ご用命は下記販売店へ

お問い合わせは下記まで



アトー株式会社

生化学・分子生物学・遺伝子工学研究機器 開発/生産/販売/サービス
(東京都許可 医療用具製造業)

■本社 〒111-0041 東京都台東区元浅草3-2-2 TEL (03) 5827-4861 (大代表) FAX (03) 5827-6647
■大阪支店 〒530-0054 大阪市北区南森町2-1-7 TEL (06) 6365-7271 (代表) FAX (06) 6365-7125

■URL <http://www.attaco.jp/>

■Mail: info@attaco.jp