

AGILENT SEAHORSE XF PLASMA MEMBRANE PERMEABILIZER (PMP)

Cell Permeabilization Reagent

Seahorse XF 細胞膜透過処理試薬 (PMP)

XF 細胞膜透過処理試薬は、培養細胞の細胞膜に孔をあけて透過性を高め、ミトコンドリア膜は無傷に保つことのできる、組換え細胞溶解タンパク質を含む試薬です。

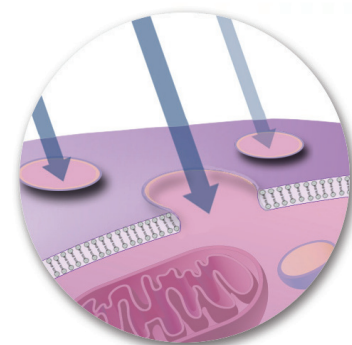
XF アナライザーを用いたミトコンドリア機能計測において、細胞膜を透過しない化合物や基質のミトコンドリア機能に対する作用を、ミトコンドリアの単離や界面活性剤処理なしに計測することが可能となります。



※XF 適用機種：全モデル

特長

- オリゴマー形成を介して細胞膜に孔を形成する、コレステロール依存性細胞溶解毒素タンパク質を含みます。
- ミトコンドリア膜・ミトコンドリア機能に損傷を与えません。
- 細胞種ごとの実験条件最適化が不要
界面活性剤と異なり、多くの細胞種において単一濃度 (1nM) で作用します。
- XF 専用マイクロプレート 6 枚分の実験が可能

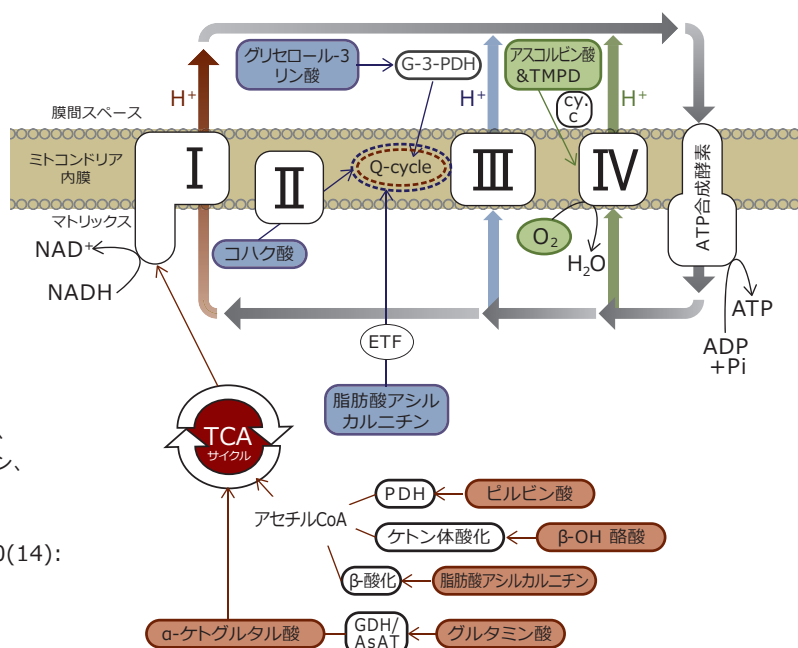


ミトコンドリア呼吸鎖と関連する基質 ▶

複合体Iに関連する基質は赤、ユビキノンプール (Q-cycle)に直接関連する基質は青、シトクロムオキシダーゼ (複合体IV) に電子と共に供給されるアスコルビン酸とTMPDは緑で示される。

PDH : ピルビン酸デヒドロゲナーゼ、
GDH : グルタミン酸デヒドロゲナーゼ、
AsAT : アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、
ETF : 電子伝達フラビンタンパク関連酵素、
G-3-PDH : グリセロール-3-リン酸デヒドロゲナーゼ、
TMPD : N,N,N',N'Tetramethyl-p-フェニレンジアミン、
cy. c : シトクロームc、Pi : 無機リン酸

Divakaruni AS et al., Proc Natl Acad Sci USA. 110(14):
5422-7 (2013) より改変



(裏面に続きます)

XF 細胞膜透過処理試薬を用いることにより、細胞膜透過試験におけるミトコンドリア電子伝達系の評価、ケトン体酸化の評価、脂肪酸β酸化の評価等が可能です。

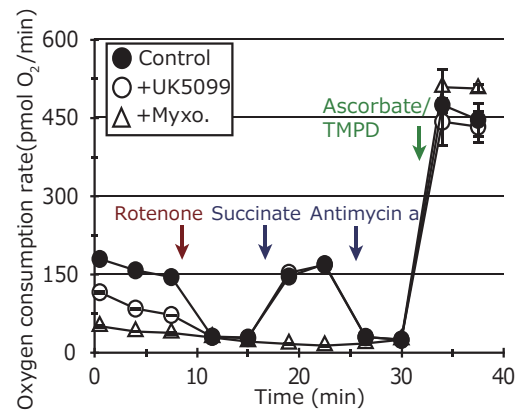
ミトコンドリア呼吸鎖評価における基質と阻害剤

基質	最終濃度	共に添加する物質	関連する阻害剤
ピルビン酸	10mM	10mM リンゴ酸 2mM DCA *	2μM ロテノン 2μM UK5099
グルタミン酸	10mM	10mM リンゴ酸	2μM ロテノン 最適濃度のアミノオキシ酢酸
β-ヒドロキシ酪酸	10mM	1mM リンゴ酸	2μM ロテノン
パルミトイルカルニチン/ オクタノイルカルニチン	40μM	1mM リンゴ酸	2μM アンチマイシンA
α-ケトグルタル酸	10mM	必要なし	2μM ロテノン
コハク酸	10mM	2μM ロテノン	2μM アンチマイシンA 2μM ミキソチアゾール 20mM マロン酸
グリセロール-3-リン酸	5~10mM	2μM ロテノン	2μM アンチマイシンA 2μM ミキソチアゾール
アスコルビン酸	10mM	100μL TMPD 2μM アンチマイシンA	20mM アジ化物

*DCAはピルビン酸デヒドロゲナーゼの潜在的なキナーゼ阻害を回避します。

- NADH 関連 (複合体 I) 基質
- 補酵素Q関連 (複合体 II・III) 基質
- シトクローム酸化関連 (複合体IV) 基質

Divakaruni AS et al., Curr Protoc Toxicol. 60:25.3.1-25.3.19 (2014) より改変



in situ 呼吸複合体アッセイ。細胞膜透過処理されたヒト線維芽細胞に対するUK 5099 (mitochondrial pyruvate carrier (MPC) 阻害剤、○) またはミキソチアゾール (ミトコンドリア複合体III阻害剤、△) の添加試験。UK5099は、ピルビン酸駆動呼吸の速度を遅らせるが、コハク酸またはアスコルビン酸/TMPDの酸化に対しては影響を与えなかった。ミキソチアゾールはピルビン酸とコハク酸双方の酸化を阻害した。データは平均±標準誤差。

Agilent 社 Technical Brief 「Using XF Plasma Membrane Permeabilizer(PMP) to Measure Mitochondrial Respiratory Complexes in Limited Biomaterial Without Isolating Mitochondria」より引用

XF細胞膜透過処理試薬 (型式102504-100)

キット構成内容：10 μM XF PMP溶液 (25μL入りバイアル1本)
(組成：10 μM パーフリノグリジンO (ウェルシュ菌由来細胞溶解毒素)、50mM HEPESバッファー、10%グリセロール、100μM NaCl)

保存条件：到着後 -20℃保存

使用期限：製造より1年間 (有効使用期限が3か月以上のものが出荷されます)

※本パンフレットに記載の製品は、すべて研究・実験用です。
人・動物の診断あるいは治療等の臨床用途に使用することはできません。

●お問合せ先 (XFシリーズ日本総代理店) :



プライムテック株式会社

東京都文京区小石川 1-3-25 小石川大国ビル2F
Phone: [東京] 03-3816-0851 [大阪] 06-6310-8077
http://www.primetech.co.jp/ sales@primetech.co.jp

●製造元 :



Trusted Answers

DE44271.6749652778
rev05 (202104E)