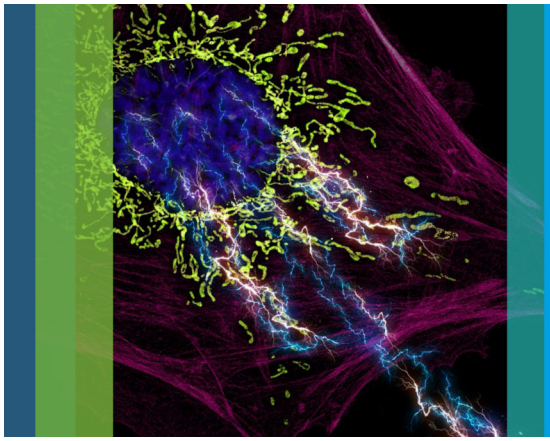


Agilent Seahorse XF Real-Time ATP Rate Assay Kits

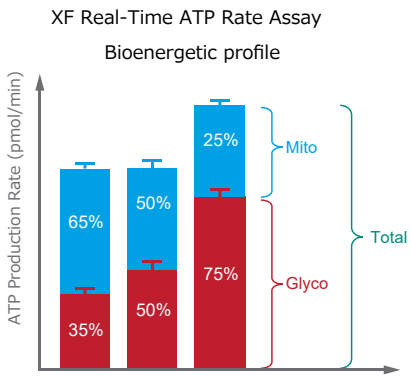
A better measure of cellular function

XF リアルタイム ATP Rate キット

細胞のATPカイネティクスを評価する 新規のアッセイ

XF リアルタイム ATP Rate キット / XFp リアルタイム ATP Rate キットは、生きた細胞のリアルタイムなミトコンドリア呼吸と解糖から ATP 産生速度を定量することのできるアッセイキットです。
ミトコンドリア呼吸による酸素消費速度 (Oxygen Consumption Rates (OCR))と解糖系による細胞外酸性化速度 (Extra-Cellular Acidification Rates (ECAR)) から、検証済みのアルゴリズムを用いて mitoATP産生速度、glycoATP産生速度、および total ATP産生速度を算出することが可能です。解析は、ATP Rate Assay Report Generator※で容易に行うことができます。

※Wave2.4以上対応、Wave2.6以上を推奨



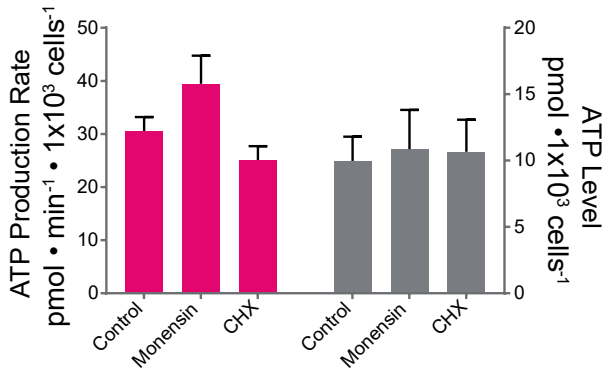
利点

・エンドポイント総ATP計測では得られない、細胞機能とエネルギー需要に関するダイナミックな情報を提供

細胞は、ATP産生速度の変化を介してATP需要の変化に応答することができ、生理学的な条件において一定の細胞ATPレベルを維持しています。ATP産生のリアルタイムな計測により、遺伝子改変・化合物暴露等に対して応答したエネルギー代謝と細胞機能の関係を評価可能です (Fig.1)。

・代謝スイッチングと経路依存性の完全な定量

代謝スイッチングは、細胞の活動に必要なエネルギー需要を満たすために1つの経路の減少した / 失われた機能を代替経路を通して補償する細胞の能力を明らかにします。
XF リアルタイム ATP Rate アッセイは、活性調節因子に応答した代謝スイッチングを定量し、経路/燃料依存性を明らかにします (Fig.2)。



Agilent社 White Paper "Quantifying Cellular ATP Production Rate Using Agilent Seahorse XF Technology" から引用

Figure 1 : A549細胞にモネンシン (Monensin; Na^+イオノフォア (200μM)) を添加すると、Na^+イオン取り込みとそれに続くNA^+/K^+ ATPase 活性の増加のため、XF リアルタイム ATP Rate アッセイで計測される ATP 産生速度は25%上昇した。シクロヘキシミド (CHX; 翻訳中のペプチド伸長阻害剤 (10μM)) を添加すると、ATP需要の減少のため、ATP産生速度は～20% 低下した。
同様の条件の細胞において、CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (Promega)を用いて計測した細胞のATPレベルは一定となった。
このことは、ATP産生速度の計測がエンドポイントのATP計測と比較して、細胞機能と代謝のダイナミクスをモニタリングするためのより優れた方法であることを証明する。

(裏面に続きます)

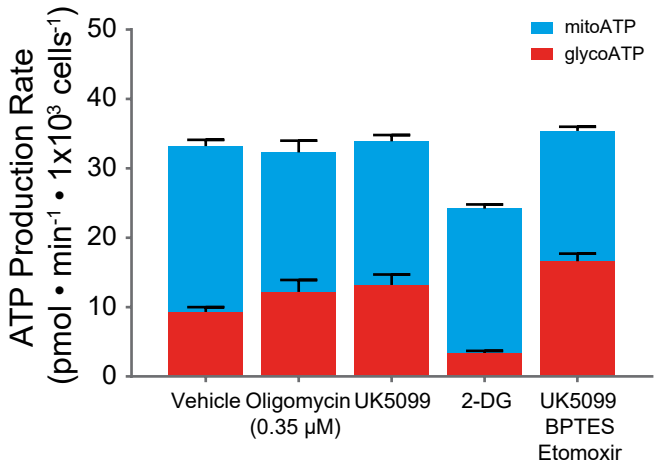


Figure 2： 異なる代謝阻害剤で処理されたMCF7細胞の XF リアルタイム ATP Rate アッセイ。Vehicle、0.35μMオリゴマイシン (ミトコンドリアATP合成を部分的に阻害する濃度)、UK5099 (mitochondrial pyruvate transporter 阻害剤 (2μM))、2-DG (解糖阻害剤 (50mM)) または UK5099 (2μM)・エトモキシル (遊離の長鎖脂肪酸酸化阻害剤 (4μM))・BPTES (glutaminase 阻害剤 (3μM)) の混合物を添加してアッセイを行い、mitoATP産生速度、glycoATP産生速度を算出した。オリゴマイシン、UK5099、3種類の阻害剤混合物 (UK5099・BPTES・エトモキシル) はミトコンドリアATP産生を阻害したが、解糖によるATP産生が補償的に増加し、総ATP産生における有意な変化はなかった。2-DGの添加については、MCF7が嫌気的解糖を維持することに加えてミトコンドリア呼吸のためのグルコース酸化に高度に依存するため、双方の経路を阻害した。

Agilent社 White Paper "Quantifying Cellular ATP Production Rate Using Agilent Seahorse XF Technology" から引用

XF リアルタイム ATP Rate キット (型式：103592-100)
XFp用 リアルタイム ATP Rate キット (型式：103591-100)

キット構成内容　・オリゴマイシン (ATP 合成酵素阻害剤)
・ロテノン (ミトコンドリア複合体 I 阻害剤) /
アンチマイシン A (ミトコンドリア複合体Ⅲ阻害剤)
※ロテノンとアンチマイシンAは単一のチューブに混合されています

1 回分 (1 プレート分) ずつアルミパウチに入っています。(1 箱 6 袋入)
保存条件：常温　　使用期限：製造より 18 カ月

※ XF リアルタイム ATP Rate キットは XF96 / XFe24 / XFe96 / XF Proモデルに、
XFp用 リアルタイム ATP Rate キットは XFp / XF HS Mini モデルに適用します。
XF24 および XF24-3 ではご利用いただけませんので、ご注文の際はご注意ください。

※ XFe96用スフェロイドマイクロプレート (型式：102959-100 / 102978-100)、
XF24/XFe24用膵島キャプチャマイクロプレート (型式：101122-100) には対応していません。

※ 計測には別途、Phenol Redを含まず HEPESを含む培地が必要です。
XF 用 DMEM培地 (PhenolRed無/pH7.4/HEPES含) / RPMI培地 (PhenolRed無/pH7.4/HEPES含)
(型式：103575-100 または 103576-100、計測する細胞により選択) を推奨します。

ご注文情報

型式	製品名	XF対応モデル
103591-100	XFp リアルタイム ATP Rate キット	XFp, XF HS Mini
103592-100	XF リアルタイム ATP Rate キット	XF96, XFe24, XFe96, XF Pro
関連製品		
103575-100	XF用 DMEM 培地 (PhenolRed無/pH7.4/HEPES含/500mL)	XF96, XFe24, XFe96, XF Pro, XFp, XF HS Mini
103576-100	XF用 RPMI 培地 (PhenolRed無/pH7.4/HEPES含/500mL)	XF96, XFe24, XFe96, XF Pro, XFp, XF HS Mini
103577-100	XF 1.0 M グルコース溶液 (50mL)	全モデル
103578-100	XF 100 mM ピルビン酸塩溶液 (50mL)	全モデル
103579-100	XF 200 mM グルタミン溶液 (50mL)	全モデル

※ 有効使用期限が残り3ヵ月以上のものが出荷されます。予めご了承ください。

※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（Seahorse XFシリーズ 販売店）：
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：
Agilent

rev06 (202403M)