

## 生細胞中の GSTP1 酵素活性を特異的に可視化する試薬 GSTP1 Green



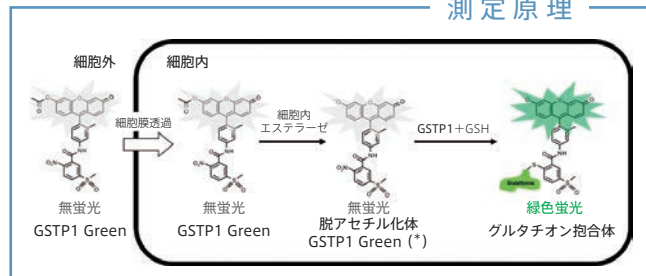
GSTP1 活性によって緑色蛍光が発生するプローブです。GSTP1 の機能解析や阻害物質探索などに有用です。

- ※本製品は研究用です。研究用以外には使用できません。
- ※本製品は東京薬科大学の研究成果をもとにフナコシ(株)が製品化し、販売しています。

### 特長

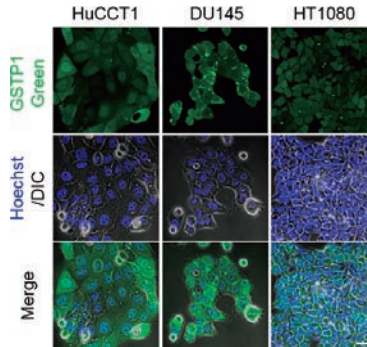
- 培地に添加するだけで細胞膜を透過し、観察できます。
- GSTP1 に高い特異性を示すことが確認されています。
- GSH との非特異的な反応はほとんど観察されていません。
- 測定波長：励起 493 nm / 蛍光 510 nm
- ※本試薬は生細胞専用です。in vitro のアッセイ(精製タンパク質やライセート)では使用できません。in vitro の GST アッセイには DNs-Rh (p.20 参照) を推奨します。

### 測定原理



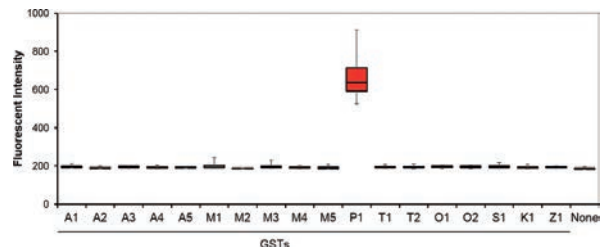
品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
GSTP1 Green	FNA FDV-0034	1 kit / 40,000
キット内容: GSTP1 Green, 補助試薬 (MK571)		

### ■各種細胞株における GSTP1 活性の可視化



GSTP1 高発現が認められる3種類のがん細胞株に対し、本製品および MK571 を添加後、緑色蛍光を観察した。いずれの細胞も細胞質から緑色蛍光が観察された。

### ■GSTP1 特異性の検証 (各種 GST ファミリーの比較)



GSTP1 低発現細胞である MCF7 に 18 種類のヒト GST ファミリーメンバーを過剰発現させ、本製品を添加して蛍光強度を評価した。評価した 18 種類の中で GSTP1 でのみ緑色蛍光が観察され、GSTP1 に高い特異性を示すことが確認できた。

## 生細胞で使用可能な不可逆的 GST 阻害物質 CNBSF <Irreversible GST Inhibitor>

CNBSF (2-Chloro-5-NitrobenzenSulfonyl Fluoride) は膜透過性を有する GST 阻害物質です。既知の GST 阻害物質として汎用される Ethacrynic Acid (EA) と比べ、高い阻害活性を示します。

- ※本製品は研究用です。研究用以外には使用できません。
- ※本製品は名古屋大学の研究成果をもとにフナコシ(株)が製品化し、販売しています。

### 特長

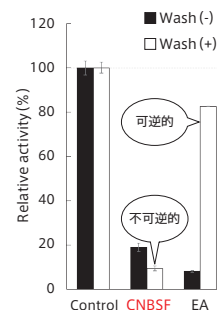
- 細胞内で GST により GSH に付加されることで、不可逆的な GST 阻害物質として機能します。
- 質量分析により内在性の GST (GSTP<sub>1,1</sub>) に共有結合することを確認しています。



質量分析による GS-5NBSF\* 結合部位の同定

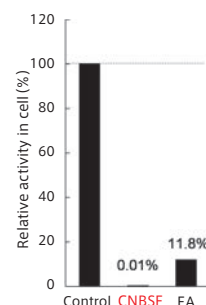
\*CNBSF と GSH の抱合体

品名	メーカー 商品コード	包装 / 価格 (¥)
CNBSF <Irreversible GST Inhibitor>	FNA FDV-0031	10 mg / 35,000



### 不可逆的な GST 阻害活性

組換え体 GSTP<sub>1,1</sub> を用いて、in vitro における阻害活性を評価した。阻害物質存在下で GSTP<sub>1,1</sub> を反応させ、限外ろ過による洗浄後、GST 活性測定プローブ DNs-Rh (p.20 参照) により GST の活性を評価した。EA は洗浄後に GST 活性が回復していることから可逆的な阻害物質であることが分かるが、本試薬は洗浄後も阻害活性が維持されていることから不可逆的に GST を阻害していることが分かる。



### 生細胞における GST の阻害活性

NCI-H522 細胞をトリプシンで剥離し、浮遊させた状態で、1 mM の阻害物質を添加し、37°C で 15 分間インキュベートした。細胞を PBS で洗浄した後、2.5 μM の DNs-Rh (p.20 参照) を添加し、37°C で 1 時間反応させた。その後細胞を再度 PBS で洗浄し未反応の試薬を取り除いた後、フローサイトメーターで定量した。本試薬を添加した細胞では、GST 活性がほぼ完全に消失しており、その効果は EA よりも高いことが分かった。