

## 8 コントロール(dexamethasone, cyclosporin A) の調製

### 8-1-1 dexamethasone の調製方法

試薬名	メーカー	ストック濃度	使用時希釈濃度	終濃度
Dexamethasone-water soluble	Sigma #D2915-100MG	50 mg/ml	50 mg/ml	1 mg/ml
Distilled water	GIBCO Cat#10977-015			

<作製方法>

Dexamethasone-water soluble 100 mg を溶媒 Distilled water 2000  $\mu$ l に溶解する。

<保存方法>

- ・ 50  $\mu$ l/tube に分注し、冷凍保存。
- ・ 小分注したものは1回融解で使い捨てすること。

### 8-1-2 cyclosporin A の調製方法

試薬名	メーカー	ストック濃度	使用時希釈濃度	終濃度
cyclosporin A	Sigma #C1832-5MG	12 mg/ml	1 mg/ml	1 $\mu$ g/ml
DMSO	Sigma #D5789			

<作製方法>

cyclosporin A 5 mg を溶媒 DMSO 416  $\mu$ l に溶解する。

<保存方法>

- ・ 10  $\mu$ l/tube に分注し、冷凍保存。
- ・ 小分注したものは1回融解で使い捨てすること。

## 8-2 細胞の調製方法

#2H4 細胞については  $4 \times 10^6$ /ml、THP-G8、TGCHAC-A4 細胞については  $2 \times 10^6$ /ml となるように B 培地に細胞を懸濁する。図のように#2H4 細胞についてはアッセイプレート (greiner 96 well black plate)の#A1-#D5、THP-G8 細胞については#E7-#H11、TGCHAC-A4 細胞については#E1-#H5 に 50  $\mu$ l/well で分注する。(図 15)

図 15

fat-bottom black	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
B	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
C	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
D	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
E	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	
F	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	
G	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	
H	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	

### 8-3 試薬の配置

DMSO 50  $\mu$ l (#A4)、CyA 12 mg/ml stock 10 $\mu$ l に DMSO 110 $\mu$ l を加えたもの(#A5)、 Distilled water 50 $\mu$ l (#B1, #B2)、DEX 60 mg/ml stock 50 $\mu$ l に distilled water 10 $\mu$ l を加えたもの(#B3)、 B 培地 180  $\mu$ l (#B4-B5)を下図のように 96 well clear plate (丸底)に分注する (図 16)。

図 16

round bottom clear	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A				DMSO 50 $\mu$ l	CyA 12 mg/ml stock 10 $\mu$ l + DMSO 110 $\mu$ l							
B	Distilled water 50 $\mu$ l	Distilled water 50 $\mu$ l	DEX 50 mg/ml stock 50 $\mu$ l	B medium 180 $\mu$ l	B medium 180 $\mu$ l							
C												
D												
E												
F												
G												
H												

↓

round bottom clear	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A				DMSO 30 $\mu$ l	CyA 1 mg/ml in DMSO 100 $\mu$ l							
B	Distilled water 50 $\mu$ l	Distilled water 50 $\mu$ l	DEX 50 mg/ml stock 50 $\mu$ l	DMSO 10% in B medium 200 $\mu$ l	CyA 100 $\mu$ g/ml DMSO 10% in B medium 200 $\mu$ l							
C												
D												
E												
F												
G												
H												

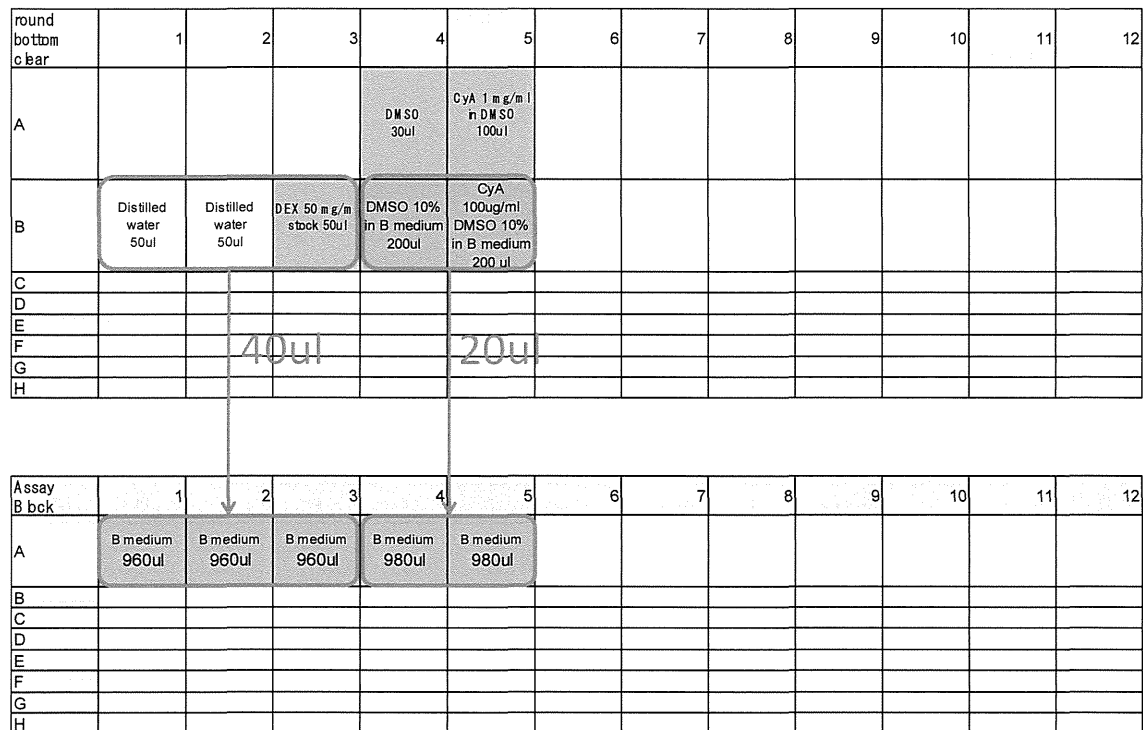
### 8-4 B 培地での希釈

矢印のように#A4 の DMSO、#A5 に調製した CyA の DMSO 溶液 20 $\mu$ l を下の B 培地 180  $\mu$ l にうつし 10 倍に希釈する。(10 倍に希釈される、図 16)

### 8-5 2段階希釈

1-3 列については 40  $\mu$ l、4-5 列については 20  $\mu$ l を取り出し、アッセイブロックの中の B 培地それぞれ 960  $\mu$ l、980  $\mu$ l に加える（それぞれ 25 倍、50 倍に希釈される、図 17）。

図 17



## 8-6 細胞への添加

50  $\mu$ l にセッティングしたピペットを用いて泡立たないように注意して 20 回ピペッティング後、#2H4 細胞、THP-G8 細胞、TGCHAC-A4 細胞の入ったプレートの 50  $\mu$ l 加える。(2 倍に希釈される、図 18、19) 8-4 から 8-6 にかけての操作は可及的迅速におこない、8-4 後、8-5 後の段階で長時間放置しないようにする。

終了後、プレートシェーカーを使用し、攪拌して混合する。細胞をインキュベーターへ入れ、1 時間反応させる。

図 18

Assay B bk	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B medium 1000ul	B medium 1000ul	DEX 2mg/ml B medium 1000ul	DMSO 0.2% B medium 1000ul	CyA 2ug/ml DMSO 0.2% B medium 1000ul							
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

flat-bottom black	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
B	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
C	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
D	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul							
E	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		
F	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		
G	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		
H	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 50ul		

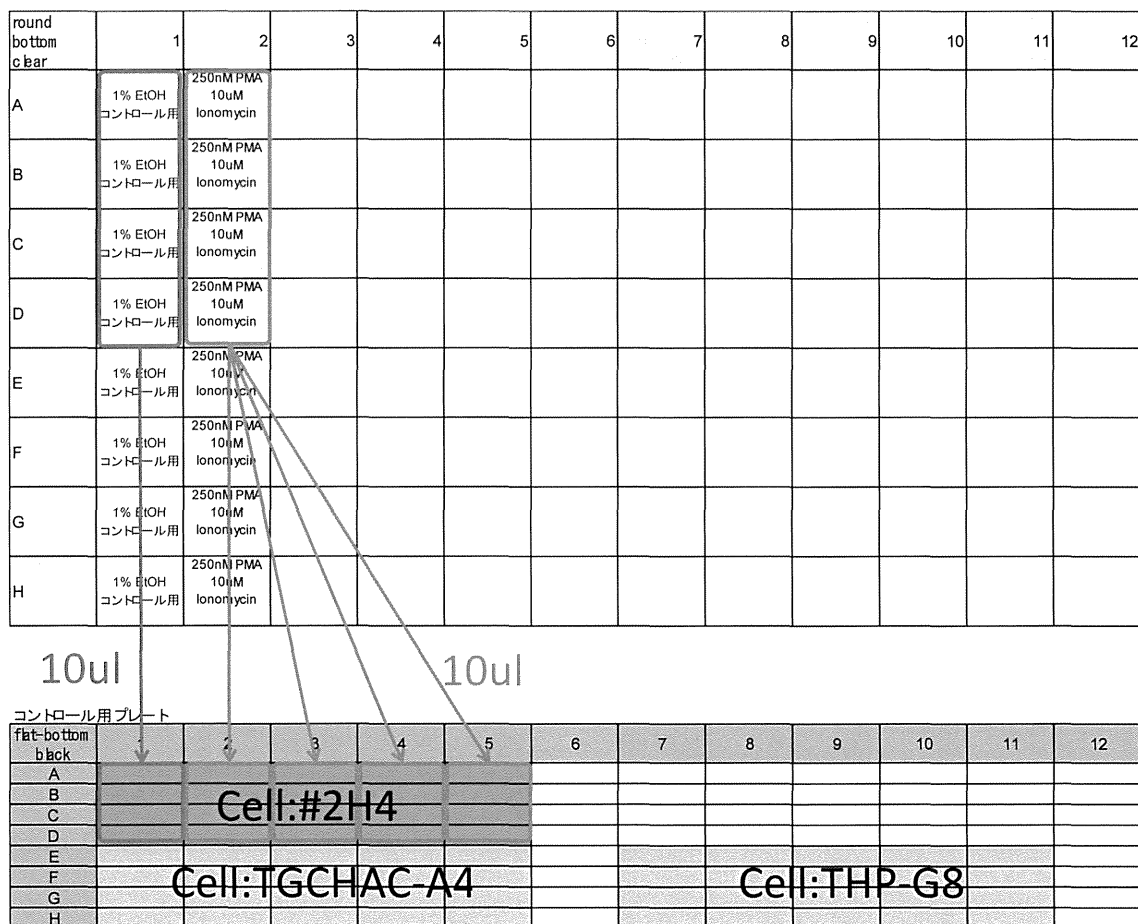
図 19 プレートにまき終わった状態

flat-bottom black	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul							
B	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul							
C	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul							
D	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	#2H4 2x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul							
E	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul	
F	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul	
G	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul	
H	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	TGCHAC-A4 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul		THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DEX 1mg/ml B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell DMSO 0.1% B medium 100ul	THP-G8 1x10 <sup>5</sup> cell Cya 1ug/ml DMSO 0.1% B medium 100ul	

### 8-7 細胞賦活試薬 (PMA/ionomycin) の#2H4 細胞への添加

DEX または CyA を添加した 1 時間後、PMA/ionomycin による細胞賦活化処理を行う。0.5~10  $\mu$ l の 8 チャンネルもしくは 12 チャンネルピペットマンを使用し、**6-4** で 96 well plate (U 底) に分注した Control 溶液 (Ethanol 溶媒コントロール) もしくは PMA/ionomycin を 10  $\mu$ l/well ずつそれぞれ#A1-#H1 もしくは#B1-#H12 の細胞に添加する (図 20)。添加の際にはチップの先を培地につけて確実に添加する。チップは 1 回添加する毎に交換する。

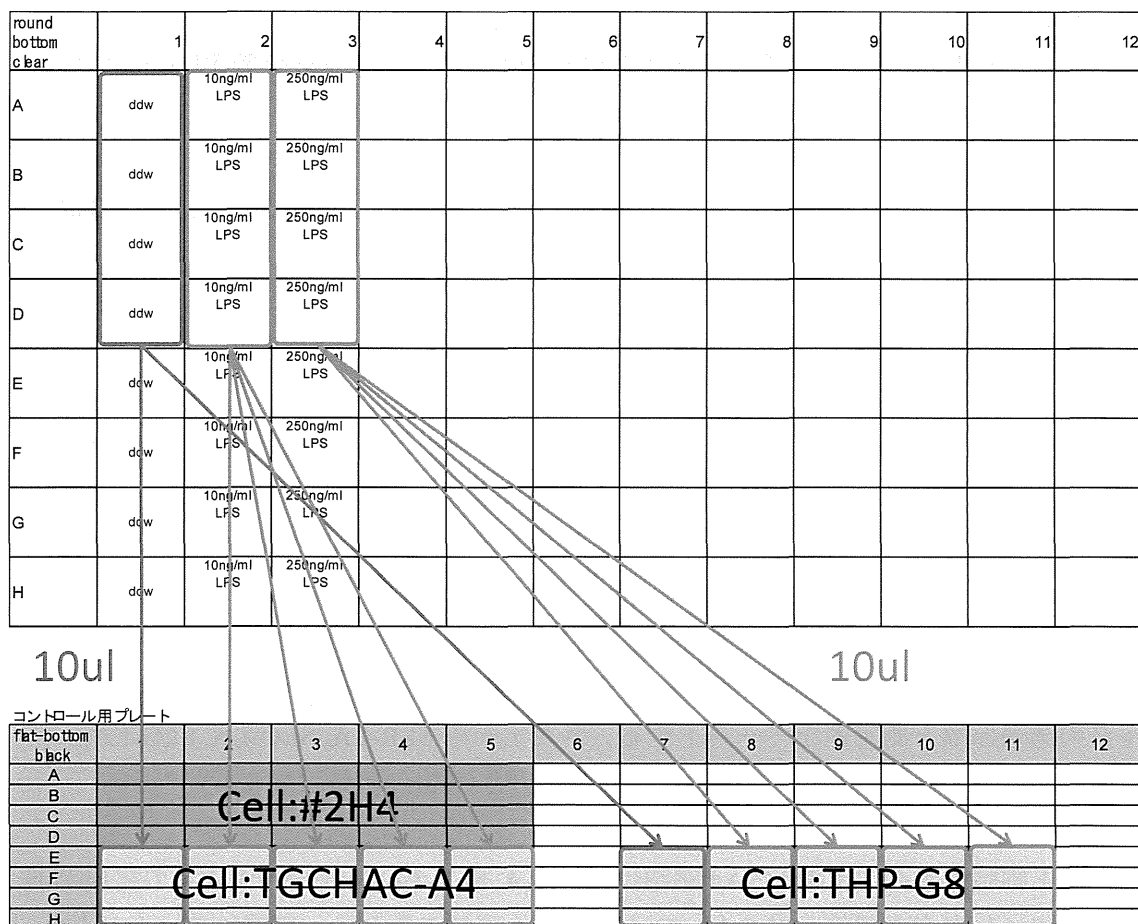
図 20



**8-8 細胞賦活試薬 (LPS) の THP-G8, TGCHAC-A4 細胞への添加**

続いて、LPS による細胞賦活処理を行う。0.5~10  $\mu$ l の 8 チャンネルもしくは 12 チャンネルピペットマンを使用して、7-2-1, 7-2-2 で 96 well plate (U 底) に分注した Control 溶液 (Distilled water) もしくは LPS を 10  $\mu$ l/well ずつそれぞれ #E1-#H1, #E7-#H7 もしくは #E2-#H5 (10ng/ml), #E8-#H11 (250ng/ml) の細胞に添加する (図 21)。添加の際にはチップの先を培地につけて確実に添加する。チップは 1 回添加する毎に交換する。終了後、プレートシェーカーを使用し、攪拌して混合する。細胞をインキュベーターへ入れ、6 時間反応させる。

図 21





## 9 シグナルアッセイ(6時間後)

- ① Tripluc® Luciferase assay reagent (Tripluc)の容器を水に漬ける、あるいは室温で放置するなどにより、溶液が完全に室温(25℃前後)に戻るよう溶解させる。光電子増倍管を安定させるため、ルミノメータは測定開始30分前には電源を入れる。
- ② リザーバーにTriplucを移し、8チャンネルもしくは12チャンネルピペットマンを使用して、反応終了後のアッセイプレートに100 µl/wellずつ分注する。
- ③ Tripluc添加後、プレートシェーカーを使用して室温(25℃前後)で10分間攪拌し、細胞を溶解させる。
- ④ well内に大きな気泡等があれば針などで潰し、ルミノメータでLuciferase活性を測定する。
- ⑤ フィルタ無し、フィルタ有りで各々3秒/well測定する(アトー社製Pheliosの場合: #2H4細胞とコントロールプレートはF0とF1とF2を使用、THP-G8細胞、TGCHAC-A4細胞はF0とF2を使用)。測定終了後、フィルタ無し、フィルタ有りの測定値から以下の様にエクセルテンプレートをを用い、SLGとSLOとSLRの発光値を算出する。

## 10 データ解析

アトーPheliosの場合: 測定が終了した時点で画面には測定値を表示したウィンドウが表示されているのでまずファイルのタブから「名前を付けて保存」を選択し適宜保存する。AB-2350 Pheliosという名前のソフトの拡張子.atmのファイルが作成される。次に、ファイルのタブからエクスポートを選択するとF0, F1およびF2の測定値が96ウェルの形にならんだエクセルファイルが作成される。今回のアッセイのデザインにあわせたひな形のエクセルファイル(Data sheet for MITA #2H4 Ver. 004.0 20141112, Data sheet for MITA THP-G8 Ver. 006.0 20150109)の「データ入力」のシートにフィルタの透過係数と測定値をペーストする。各ウェルのSLR-LA, SLO-LA, SLG-LA, nSLO-LA, nSLG-LA、および% suppressionが算出される。

THP-1細胞由来のTGCHAC-A4細胞はSLG-LA, SLR-LAのうちSLR-LAの発現が弱く単独では生存率の評価、SLG-LAのノーマライズができない。同時にアッセイしたTHP-G8細胞のSLR-LAを代わりに使用する。

データの解析については生存率(I.I.-SLR-LA)が0.05以上の範囲において、各濃度毎にPMA/Io単独、LPS単独と比べ、サイトカインプロモーター活性が抑制されているかまたは亢進されているか5%の有意水準でOne way anova→Dunnett検定をおこない判定する(+: immunostimulation, -: immunosuppression, 0: non-significant change, +と-が混在するものは+と記載する)。同じ化学物質について3回アッセイを行い3回

とも結果が一致したものはその結果をもって最終結果とする (S : immunosuppressive drug, A : immunostimulatory drug, N : not effective drug)。-または+が 2 回含まれる際にはそれぞれのアッセイでもっともコントロール値より離れた%suppression の値 (+については、濃度依存性が+側、-側のどちらか片方で認められる際には濃度依存性が認められる濃度でもっともコントロール値より離れた%suppression の値、+側、-側の両方に濃度依存性が認められる際、または両方に濃度依存性が認められない際にはすべての濃度でもっともコントロール値より離れた%suppression の値) で Student-t 検定を行い、5%の有意水準で有意なものはその結果を最終結果 (S : immunosuppressive drug, A : immunostimulatory drug) とし、有意でなかったものは N : not effective drug とする。

判定に使用するパラメーター

SLG-luciferase activity (SLG-LA) : SLG のルシフェラーゼ活性  
(IL-2 または IL-1 $\beta$ プロモーターの下流で発現)

SLO-luciferase activity (SLO-LA) : SLO のルシフェラーゼ活性  
(IFN- $\gamma$ または IL-8 プロモーターの下流で発現)

SLR-luciferase activity (SLR-LA) : SLR のルシフェラーゼ活性  
(G3PDH プロモーターの下流で発現)

Normalized SLG-LA (nSLG-LA) :  $SLG-LA / SLR-LA$   
(SLG-LA の値を SLR-LA の値で標準化した値)

Normalized SLO-LA (nSLO-LA) :  $SLO-LA / SLR-LA$   
(SLO-LA の値を SLR-LA の値で標準化した値)

Inhibition index of SLR-LA (I.I.-SLR-LA) :  
化学物質添加時の SLR-LA / 無添加時の SLR-LA  
(化学物質処理の有無による SLR-LA の変化)

% suppression :

$(1 - \text{薬剤処理後のレポーター細胞の nSLG-LA または nSLO-LA} \div \text{薬剤処理で処理されていないレポーター細胞の nSLG-LA または nSLO-LA})$

x 100