

一般研究用

HaloTag® AcidiFluor™ ORANGE Ligand

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC310-01	HaloTag® AcidiFluor™ ORANGE Ligand	30 nmol	遮光冷凍保存	未開封で約1年
GC310-02		60 nmol		

1. はじめに

■ HaloTag® AcidiFluor™ ORANGE Ligand について

HaloTag® AcidiFluor™ ORANGE Ligand は、酸性条件で蛍光が劇的に上昇する、S/N 比が高い蛍光プローブです。細胞膜非透過性のHaloTag® AcidiFluor™ ORANGE Ligand は、細胞膜表面のHaloTag®タンパク質への特異的な標識を行います。蛍光色はオレンジで、532 nm、514 nm で励起が可能です。DAPI、Hoechst などの青色蛍光やGFP、Fluorescein などの緑色蛍光、さらに近赤外蛍光の色素と共染色ができます。この蛍光プローブは褪色に非常に強く、細胞膜受容体等のエキソサイトーシス・エンドサイトーシスに対する長期タイムラプスイメージングに最適です。

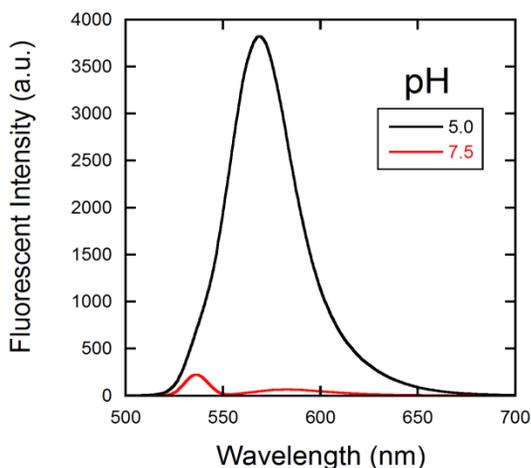


図1: 各pH溶液中の蛍光スペクトル

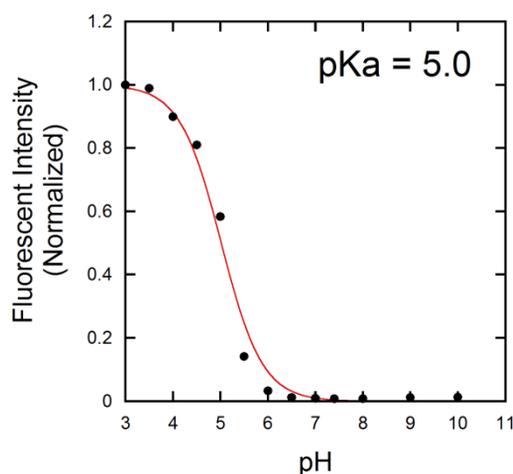


図2: 蛍光強度のpH依存性

最大吸収波長: 520 nm

最大蛍光波長: 565 nm

吸光係数 (ϵ): 60,000

量子収量 (ϕ): 70%

輝度 : 42,000

2. 生細胞染色方法

■試薬の調製および細胞染色

- ① 本製品は粉末で出荷している。まず、色素濃度：2 mMとなるように、GC310-01は15 μ l , GC310-02は30 μ lの純水で溶解する。
- ② 細胞膜表面にHaloTag®タンパク質を発現させた細胞を培養する(DMEM培地、5% CO₂, 37°C等)。培地で2回洗浄を行う。注：培養容器は自家蛍光のない「ガラスボトムディッシュ」等を推奨する。
- ③ **HaloTag® AcidiFluor™ ORANGE Ligand** を細胞培地中に1/200に希釈し、5X working stock solutionとする。この溶液を37°Cで保温する。
- ④ 細胞に、培養している液体培地の1/5量の 5X working stock solutionを添加し、優しく攪拌させる。(HaloTag® **AcidiFluor™ ORANGE Ligand** の終濃度は2 μ Mとなる。)
- ⑤ 37°C、5% CO₂ 雰囲気下で約15分間インキュベーションする。
- ⑥ 染色後、培地で2回細胞を洗浄し、フリーの色素を除去した後、常法にて蛍光観察を行う。

■蛍光観察

励起波長は 532 nm または 514 nm が適当。用いるフィルタは、Cy3、TRITC(Nikon 社)もしくはU-FGWA、U-FGW、U-FGNA、U-FRFP(Olympus 社)等が最適。蛍光波長はおよそ 560 nm をピークに検出される。

■保存

本製品は粉末で出荷しております。ストック溶液は色素濃度：2 mMとなるように、それぞれGC310-01は15 μ l , GC310-02は30 μ lの純水で溶解して下さい。色素は冷暗所(-20 °C以下)で保存してください。安定性に影響しますので繰り返しの凍結融解はお避け下さい。小分けにして保存することをお勧めいたします。

3. 参考文献

Asanuma D, Takaoka Y, Namiki S, Takikawa K, Kamiya M, Nagano T, Urano Y & Hirose K. Acidic-pH-Activatable Fluorescence Probes for Visualizing Exocytosis Dynamics. *Angew Chem Int Ed* 53 (24) 6085–6089, 2014

作成日：2015年 8月18日

製造元：

五稜化学株式会社
〒001-0021 北海道札幌市北区北21条西12丁目2
TEL: 011-214-9422 FAX: 011-351-1822
URL: <http://www.goryochemical.com/>

販売元：

プロメガ株式会社
〒103-0011 東京都中央区日本橋大伝馬町14-15
TEL: 03-3669-7981 FAX: 03-3669-7982
URL: <http://www.promega.co.jp/>