

一般研究用

# **MAR**

## 表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
A101-01	MAR	25 μg × 5	遮光冷凍保存 DMSO溶解後は使い切り	未開封で約1年

### 1. はじめに

### ■ MARについて

MARは細胞内が低酸素状態になると生体内還元酵素により還元され、強い蛍光を発する生細胞イメージング用蛍光プローブです。 MARは幅広いpH条件で安定であり、酸素濃度が5%程度の比較的マイルドな生細胞中における低酸素状態も検出します。

## 2. 生細胞染色例 (A549細胞)

## ■細胞培養

A549細胞は10% ウシ血清(FBS)と1%ペニシリン・ストレプトマイシンを含むDMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) 培養液を用いて、37°C、5% CO2 雰囲気下で培養する。

実験の2日前にA549細胞をポリ-L-リジンコーティングされたガラスボトムディッシュ上に植える。

## ■ご用意頂くもの

- ·脱水DMSO
- PBS

### ■試薬の調製および細胞染色

- ① MARを DMSO に溶解させ 1 mM 溶液とする。
- ② 色素のDMSO溶液をDMEMで希釈し、終濃度 0.5 μM の染色液とする。
- ③ 細胞をPBSで洗浄した後、0.5 μM MARを含むDMEM 染色液中にて1時間インキュベーションする。
- ④ 細胞をPBSで洗浄した後、培養液に戻し、カバーガラスを細胞の上にやさしく乗せ、3時間培養する。
- ⑤ 常法にて蛍光観察を行う。

### ■蛍光観察

励起波長は488 nm が適しています。蛍光波長はおよそ 520 nm をピークに検出されます。

### ■保存

色素は窒素封入、乾燥状態で冷凍出荷しております。入荷後は冷凍で保存してください。DMSOに溶解後の溶液の保存はお勧め致しません。

For research use only

# MAR

Table 1. Product information

品看	<b></b>	品名	容量	保存	安定性
A101	-01	MAR	25 μg × 5	Store under -20 °C, desiccate and protect from light. Unrecommend storing DMSO solution of dye	1 year (unopened)

### 1. Introduction

### About MAR

MAR is a fluorescent imaging probe for detection of hypoxia. MAR is reduced and makes bright fluorescence under hypoxic condition. MAR is able to work under the wide range of pH and to detect mild hypoxia, in which O<sub>2</sub> concentration is around 5%, in living cells.

## 2. Example of live cell imaging with A549 cells

## ■Cell culture

A549 is cultured in DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) containing 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% penicillin streptomycin at  $37^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> atmosphere.

Seed the cells on to the glass bottom dish coating with poly-L-lysine 2 days before the experiment.

### ■ Materials Required but not Provided

- Dimethylsulfoxide (DMSO), dehydrated
- PBS

### ■ Procedure

- ① Dissolve **MAR** in DMSO to 1 mM stock solution.
- ② Dilute the DMSO stock solution with DMEM to 0.5 µM cell stain solution.
- 3 Wash the cell with PBS, add stain solution to the dish and incubate for 1 hour at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.
- Wash the cell with PBS, add DMEM to the cell, put the cover slip gently on to the cell and incubate for 3 hours at 37°C, 5% CO<sub>2</sub>.
- ⑤ Observe the cells using a fluorescence microscopy.

## ■ Fluorescent observation

498 nm is suited for excitation wavelength. The wavelength of maximum emission is around 520 nm.

#### ■ Storage

Probes are forwarded under conditions of  $N_2$  atmosphere, dry and frozen state. After receipting, store under -20°C, desiccate and protect from light. We recommend using up DMSO solution of dye.