

一般研究用

# CaTM-2™ / CaTM-2™ AM

表 1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC501 GC502	CaTM-2™	500 µg × 1 本 50 µg × 10 本	遮光冷凍保存 DMSO溶解後は使い切り	未開封で1年
GC503 GC504	CaTM-2™ AM	500 µg × 1 本 50 µg × 10 本		

## 1. はじめに

### ■CaTM-2™ / CaTM-2™ AM について

赤色蛍光色素 TokyoMagenta を用いた CaTM-2™ / CaTM-2™ AM は、細胞質におけるカルシウムイオン挙動解析に最適な赤色蛍光カルシウムプローブです。カルシウムイオン濃度に応じて感度良く蛍光を発します。CaTM™-2 及び CaTM-2™ AM は 609 nm に蛍光極大波長をもつ赤色蛍光カルシウムプローブであり、可視光領域に蛍光波長を有する蛍光色素 Hoechst33342、Fluorescein や蛍光タンパク質 GFP、YFP 等とのマルチカラーイメージングが可能です。長波長領域は、組織透過性に優れ、光細胞毒性が低いという利点があります。

CaTM-2™ / CaTM-2™ AM はカルシウムイオンとの解離定数 ( $K_d$ ) が 0.20 µM であり、カルシウムイオン濃度に応じて感度良く赤い蛍光を発します。

また、CaTM-2™ / CaTM-2™ AM は細胞にロードすると細胞質に一様に分布する、細胞質でのカルシウム濃度の解析に最適な赤色蛍光のカルシウムプローブです。CaTM-2™ はマイクロインジェクション、パッチクランプ、エレクトロポレーション等での細胞導入に適しています。CaTM-2™ AM は CaTM-2™ のアセトキシメチルエステル体で、細胞膜を通過することができ、細胞内のエステラーゼにより加水分解されて CaTM-2™ になり、細胞内に滞留します。これらの手法により CaTM-2™ が導入された生細胞では、細胞内カルシウム濃度変動を蛍光強度変化としてとらえることが可能です。

## 2. CaTM-2 AM を用いた生細胞染色方法

### ■ご用意頂くもの

- Dimethylsulfoxide (DMSO)
- Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) などの色素導入用培地
- 20 % Pluronic F-127 in DMSO

#### ■試薬の調製および細胞染色

- ① 50  $\mu\text{g}$  の CaTM-2™ AM が入ったチューブに 41  $\mu\text{L}$  の DMSO を加えて色素を溶解させ、これを 1 mM stock solution とします(導入効率の向上、局在の抑制のために、Pluronic F-127 を添加しておくことを推奨します)。
- ② CaTM-2™ AM の最終濃度が 1 - 10  $\mu\text{M}$  となるよう HBSS などの適切な色素導入用の培地に溶解し、染色液とします (Pluronic F-127 の最終濃度は 0.01 - 0.05 % 程度です)。
- ③ 細胞を培養している容器から培地を除去し、色素導入用の培地で洗浄を行います。  
注: 培養容器は自家蛍光のない「ガラスボトムディッシュ」等を推奨します。
- ④ 培養容器に染色液を入れ、37 °C、5 % CO<sub>2</sub> 雰囲気下で 10- 60 分間インキュベーションします。
- ⑤ 容器から染色液を除去し、プローブを含まない培地で洗浄を行った後、蛍光強度変化の観察を行います。

#### ■蛍光観察

励起波長は 597 nm が適しています。用いるフィルタは、Texas Red、Y-2E/C (Nikon 社)もしくはU-FYW、U-MWIY2 (Olympus 社)等が使用できます。蛍光波長はおよそ 609 nm をピークに検出されます。

### 3. 保存

色素は窒素封入、乾燥状態で冷凍出荷しております。入荷後は乾燥した冷暗所(-20 °C以下)で保存してください。DMSO に溶解後は、1 回使い切りを推奨します。

### 4. 参考文献

Egawa T., Hirabayashi K., Koide Y., Kobayashi C., Takahashi N., Mineno T., Terai T., Ueno T., Komatsu T., Ikegaya Y., Matsuki N., Nagano T., Hanaoka K.  
*Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 3874 –3877.