

CaSiR-1, CaSiR-1 AM

表 1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC401	CaSiR-1	1 mg	湿気を避け、 遮光冷凍保存	未開封で 約1年
GC402		50 µg × 20		
GC4021		50 µg × 10		
GC403	CaSiR-1 AM	50 µg × 20		
GC4031		50 µg × 10		

1. CaSiR-1, CaSiR-1 AM について

CaSiR-1, CaSiR-1 AM はシリコンローダミンを蛍光母核とするカルシウム検出用の蛍光プローブです。650 nm の波長帯で励起することができ、カルシウム濃度に応じて可逆的に、664 nm をピークとする深赤色から近赤外にかけたの蛍光を発生します。この長波長域の蛍光により、動物組織の自家蛍光に影響されにくいイメージングが可能です。

CaSiR-1 は膜透過性がなく、無細胞系でのカルシウムの検出、定量に適しています。また、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も適しています。

CaSiR-1 AM は CaSiR-1 のアセトキシメチルエステル体です。細胞膜透過性があり、細胞内のエステラーゼにより加水分解されてカルシウム応答性のある CaSiR-1 になるとともに、細胞内に滞留します。

CaSiR-1 の物性

Abs _{max}	650 nm
FL _{max}	664 nm
K _d (Ca ²⁺)	0.58 µM
Φ	0.20

■ 保存

CaSiR-1 は濃褐色の固体、CaSiR-1 AM は濃紺色の固体で、窒素封入、乾燥状態で出荷しています。入荷後は遮光し-20°C以下で冷凍保存してください。DMSO 溶解後はすみやかにご使用ください。溶液を凍結保存した場合の性能は保証対象外です。



2. プロトコル

■ ご用意いただくもの

- ・ Dimethylsulfoxide (DMSO)
- ・ 20% (w/v) Pluronic F-127 in DMSO
- ・ 適切な洗浄および観察用バッファ（例: HBSS など）

■ 試薬の調製

1. CaSiR-1 AM の固体が輸送中の振動などでキャップ等に付着していることがあります。開封前にチューブをマイクロ遠心機等で遠心し、粉末をチューブの底に集めてください。
2. 室温に戻した 50 µg の CaSiR-1 AM (1 バイアル) を 20% Pluronic F-127 が入った DMSO 46 µL に溶解し、1 mM ストック溶液を作成します。ピペティングで完全に溶解してください。

■ HeLa 細胞のカルシウム濃度観察例

1. ポリリジンコートしたガラスボトムディッシュに HeLa 細胞を播種し、37°C 5% CO₂ の条件下で DMEM + 10% FBS で 1 晩以上培養します。次に、培地を取り除き、HBSS で優しく 3 回洗浄します。
2. CaSiR-1 AM の 1 mM ストック溶液を HBSS で希釈し、終濃度 3 µM の導入用溶液を作成します。この溶液には終濃度 0.06% の Pluronic F-127 と 0.3% の DMSO が含まれます。この導入用溶液を HBSS を除いた培養容器に加え、37°C 5% CO₂ 条件で 30 分間インキュベートし、プローブを細胞に導入します。

3. 溶液を取り除き、細胞を HBSS で 3 回優しく洗浄します。
4. HBSS 中の細胞を蛍光顕微鏡で観察します。
5. 観察しながら、終濃度 1 µM のヒスタミンを加えると、細胞内のカルシウム濃度の振動が観察されます。
6. 同様に終濃度 5 µM のイオノマイシンを加えると、細胞内のカルシウム濃度の増加が観察されます。

プローブ濃度は 1–20 µM 程度の範囲で目的に応じて調整してください。使用方法については末尾の文献も参考にしてください。

■ 蛍光観察

観察のためには、共焦点レーザー顕微鏡では 630–650 nm のレーザーで励起し、レーザー波長より長いおよそ 720 nm までの蛍光を観察します。蛍光顕微鏡では、Cy5 や Alexa647 用などの蛍光フィルターキューブが適合します。

参考文献:

F. Zhang, E. S. Tzanakakis (2017) [Sci. Rep. 7:9357](#)

M. Mizunuma, H. Norimoto, K. Tao, T. Egawa, K. Hanaoka, T. Sakaguchi, H. Hioki, T. Kaneko, S. Yamaguchi, T. Nagano, N. Matsuki and Y. Ikegaya (2014) [Nat. Neurosci. 17: 503-505](#)

T. Egawa, K. Hirabayashi, Y. Koide, C. Kobayashi, N. Takahashi, T. Mineno, T. Terai, T. Ueno, T. Komatsu, Y. Ikegaya, N. Matsuki, T. Nagano, K. Hanaoka (2013) [Angew. Chem. Int. Ed. 52: 3874-3877](#)

T. Egawa, K. Hanaoka, Y. Koide, S. Ujita, N. Takahashi, Y. Ikegaya, N. Matsuki, T. Terai, T. Ueno, T. Komatsu, T. Nagano (2011) [J. Am. Chem. Soc. 133: 14157-14159](#)

表 2. 関連製品

型番	品名	主な用途
GC501 GC502	CaTM-2	赤色蛍光による Ca ²⁺ の検出に
GC503 GC504	CaTM-2 AM	赤色蛍光による細胞内 Ca ²⁺ の検出に
GC505	CaTM-2 Assay Kit	96 well plate での細胞アッセイに最適化したスクリーニング用キット
GC507	CaTM-3 AM	赤色蛍光による Ca ²⁺ の検出に。より均質な細胞内局在が得られます。
SK1003-01	DAF-FM	緑色蛍光による一酸化窒素の検出に
SK1004-01	DAF-FM DA	緑色蛍光による細胞内一酸化窒素の検出に
SK1005-01	DAR-4M	赤色蛍光による一酸化窒素の検出に。広い pH 領域で使えます。
SK1006-01	DAR-4M AM	赤色蛍光による細胞内一酸化窒素の検出に。広い pH 領域で使えます。