

一般研究用

AcidiFluor™ ORANGE-Zymosan A

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC305	AcidiFluor™ ORANGE-Zymosan A	1 mg	遮光冷凍保存	未開封で約1年

1. はじめに

■ AcidiFluor™ ORANGE-Zymosan A について

AcidiFluor™ ORANGE-Zymosan Aは、AcidiFluor™ ORANGEと酵母細胞壁由来の免疫活性化物質Zymosan Aの共有結合体です。AcidiFluor™ ORANGEは生理的pH 7.4と比較して酸性オルガネラ内環境 (pH 5.0) において蛍光強度が約20倍に増大し、優れたS/N比を示します (図1)。本プローブは吸収極大波長が538 nm、蛍光極大波長が568 nmのオレンジ色の蛍光を発するため、GFPやFluoresceinなどの緑色蛍光、HoechstやDAPIなどの青色蛍光とのマルチカラーイメージングが可能です。本製品は細胞毒性が低く、強い褪色耐性を示すため、ライブセルイメージングに最適です。また、標識体としてZymosan Aを用いることで効率よく貪食を誘導でき、貪食のコントロールや貪食能評価など幅広くご使用いただけます。

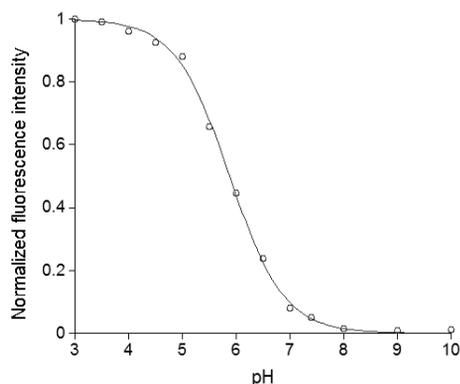


図1. AcidiFluor™ ORANGE-NHSのpH依存的な蛍光強度変化

0.1 M リン酸緩衝液 pH 4.0~10で測定。
 λ_{ex} 532 nm/ λ_{em} 568 nm

2. 生細胞染色方法

■ ご用意頂くもの

- ・HBSS
- ・細胞培養メディアウム

■ 試薬の調製および細胞染色

- ① 細胞培養メディアウムにAcidiFluor™ ORANGE-Zymosan Aを懸濁させ、染色懸濁液とします。本製品は水に不溶性です。※ 終濃度 $\geq 50 \mu\text{g/mL}$ でのご使用をおすすめしています。
- ② 染色懸濁液を10分間以上ソニケーションし、粒子を均一に分散させます。ソニケーションによる過熱を避けるため、2分ごとに氷上で冷却します。※ 推奨: 染色混濁液を $5 \mu\text{m}$ フィルターでろ過し、凝集体を除去します。

- ③ 培養細胞からメディウムを除去し、2回洗浄を行います。※ 培養容器は自家蛍光の少ない「ガラスボトムディッシュ」等をおすすめしています。
- ④ 培養容器に染色懸濁液を入れ、37℃、5% CO₂雰囲気下で 1時間以上インキュベーションします。通常1時間程度で良く染色されます。※ 貪食のタイムラプスイメージングに使用する場合は、染色懸濁液を入れたままでも観察可能です。
- ⑤ 染色後、HBSSで3回洗浄を行い、HBSSもしくは適切な観察用バッファーに置換し、常法にて蛍光顕微鏡観察を行ってください。

■ 蛍光観察

励起波長は532 nmまたは514 nmが適当です。蛍光波長はおよそ568 nmをピークに検出されます。用いるフィルタは、Cy3, TRITC (Nikon社) もしくはU-FGWA, U-FGW (Olympus 社) 等が最適です。

■ 保存

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

■ 関連製品

【GC301】AcidiFluor™ ORANGE (10 µg × 20)

【GC302】AcidiFluor™ ORANGE-NHS (1 mg)

【GC304】AcidiFluor™ ORANGE Labeling Kit (5回分)

【GC306】AcidiFluor™ ORANGE-Dextran 10k (1 mg)

【GC309】AcidiFluor™ ORANGE-Transferrin (1 mg)