

Hydroxyphenyl Fluorescein (HPF) Aminophenyl Fluorescein (APF)

表 1. 製品情報

品番	品名	状態	容量	保存	安定性
SK3001-01	Hydroxyphenyl Fluorescein (HPF)	5 mM DMF 溶液	0.47 mL (1 mg HPF を含む)	火気を避け 遮光冷蔵保存	未開封で1年
SK3001-02	Hydroxyphenyl Fluorescein (HPF)	粉末	1 mg	遮光し-20℃ 以下で保存	
SK3002-01	Aminophenyl Fluorescein (APF)	5 mM DMF 溶液	0.47 mL (1 mg APF を含む)	火気を避け 遮光冷蔵保存	
SK3002-02	Aminophenyl Fluorescein (APF)	粉末	1 mg	遮光し-20℃ 以下で保存	

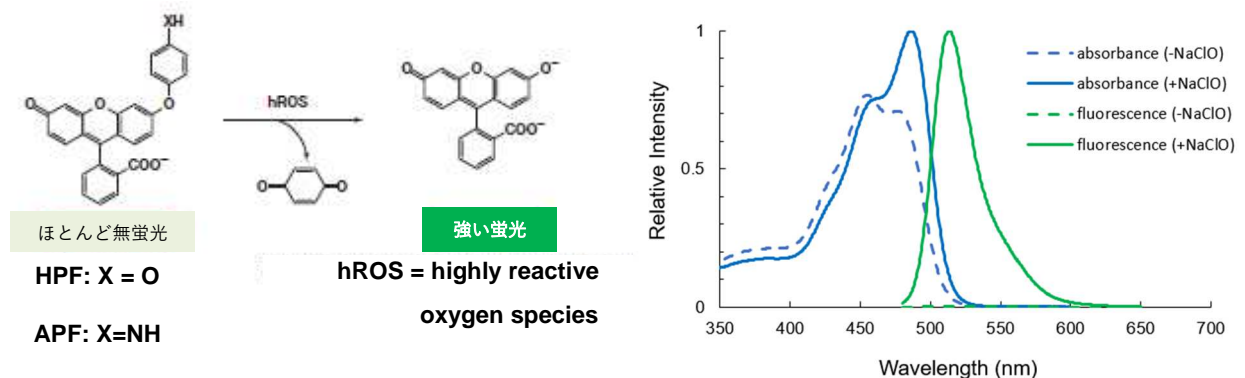
*DMF 溶液の試薬は冷蔵または冷凍便で出荷されます。冷凍保管も可能です。

1. 特徴

- ヒドロキシルラジカル ($\cdot\text{OH}$)、パーオキシナイトライト (ONOO^-) のような強い活性を持つ活性酸素種を他の活性酸素種 ($\text{O}^{\cdot-}$, H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, NO 等) から区別して検出できます。
- APF は次亜塩素酸イオン (OCI^-) も検出できます。HPF は次亜塩素酸とはほとんど反応しません。
- 光励起による自動酸化 (autooxidation) がほとんどないため、既存の活性酸素検出試薬に比べて取扱いが容易で、信頼性の高いデータを得ることが可能です。
- 生細胞蛍光イメージングが可能です。

2. 測定原理

HPF, APF は中性水溶液中でほとんど蛍光を示しませんが、これらのプローブが強い活性を持つ活性酸素種と反応すると、強蛍光性化合物であるフルオレセイン (励起波長約 490 nm、蛍光波長約 515 nm) が生成し、蛍光強度の増大が観測されます。



3. 使用方法

粉末試薬 (SK3001-02, SK3002-02) の場合は、溶媒として N,N-dimethylformamide (DMF) をご用意ください。Dimethyl sulfoxide (DMSO) はヒドロキシラジカル発生を抑制するため溶媒には適しません。バイアルを完全に室温に戻してから開封し、470 μ L の DMF で溶解して 5 mM 溶液を作成してください。SK3001-01, SK3002-01 は DMF に溶解済みの 5 mM 溶液です。使用時にリン酸バッファー (0.1 M, pH 7.4) 等で 500–5000 倍 (1–10 μ M) 程度に希釈してご使用ください。濃度や使用条件に関しましては、目的の用途に応じて適宜調整してください。

試薬はバッファー等に希釈すると黄色の溶液になりますが、この状態では蛍光はほとんど観察されません。ROS との反応の後、励起波長 490 nm、測定波長 515 nm で蛍光を測定します。蛍光顕微鏡では FITC, GFP 用などの一般的な B 励起フィルターセット、または 488 nm のレーザー励起などが使用できます。

4. 参考文献

K. Setsukinai, Y. Urano, K. Kakinuma, H. J. Majima and T. Nagano (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 3170-3175
他に多数の使用実績があります。弊社ホームページに文献情報を掲載しております。
<http://www.goryochemical.com/products/rosfluor/hpf-apf.html>

5. 使用上の注意

試薬は使用直前にバッファーに希釈し、すみやかに使用してください。また開封後は試薬が酸化して性能が低下しますので、使い切りを推奨します。

希釈バッファーは pH 7–7.5 のものをご使用ください。また牛血清アルブミン (BSA)、フェノールレッド等は測定に影響を及ぼす恐れがあります。

SK3001-01, SK3002-01 に含まれる DMF は危険物第四類 (第三石油類 危険等級 III - 水溶性) に該当します。火気を避けて保存してください。また、本品を飲んだり皮膚につけないよう注意してください。万一目に入った場合はすぐに水で洗眼後、医師の診察を受けてください。皮膚や衣類に付着した場合はすぐ水で洗い流してください。

表 2. 関連製品

型番	品名	主な用途
GC3004-01	OxiORANGE™	オレンジ色蛍光による hROS の検出に
GC3006-01	HySOx	細胞内の次亜塩素酸の検出に
GC3007-01	HYDROP™	細胞内の過酸化水素の検出に
SK3003-01	NiSPY-3	パーオキシナイトライト (ONOO ⁻) の検出に
GC901	FeRhoNox™-1	ゴルジに局在する Fe (II) イオンの検出に。
SK2001-01	ZnAF-2	亜鉛イオン (Zn ²⁺) の検出に。
SK2002-01	ZnAF-2DA	細胞内の亜鉛イオン (Zn ²⁺) の検出に。