

一般研究用

# CaSiR-1™ / CaSiR-1 AM

表1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC401 GC402	CaSiR-1™	1 mg × 1本 50 µg × 20 本	遮光冷凍保存 DMSO溶解後は使い切り	未開封で1年
GC403	CaSiR-1™ AM	50 µg × 20 本		

## 1. はじめに

### ■ CaSiR-1™ / CaSiR-1™ AM について

CaSiR-1™ 及び CaSiR-1™ AM は 664 nm の蛍光極大波長をもつ近赤外蛍光カルシウムプローブです。Hoechst 33342, Fluorescein, Rhodamine や、GFP, YFP, RFP 等の可視光領域に蛍光波長を有する蛍光色素、蛍光タンパク質とのマルチカラーイメージングが可能です。

CaSiR-1™ はカルシウムの解離定数  $K_d$  が 0.58 µM と低く、比較的低濃度のカルシウムも検出できます。カルシウムが存在しないときは、蛍光がほとんど検出されず、カルシウム濃度を 0 µM から 39 µM に変化させると、1000 倍以上の蛍光強度上昇を示します。

CaSiR-1™ 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。CaSiR-1™ AM は CaSiR-1™ のアセトキシメチルエステル体で、細胞膜透過後に細胞内のエステラーゼにより加水分解されて CaSiR-1™ になり、細胞内に滞留します。CaSiR-1™ 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。神経細胞では活動電位を細胞内カルシウム濃度変動として間接的にとらえることも可能です。

## 2. CaSiR-1 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) などの色素導入用バッファー
- ・ 20 % Pluronic F-127 in DMSO

### ■ 試薬の調製および細胞染色

- ① 50 µg の CaSiR-1™ AM が入ったチューブに 46 µL 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 CaSiR-1™ AM の最終濃度が 1 - 10 µM 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 650 nm が適しています。用いるフィルタは、Cy5 (Nikon 社) もしくは U-DM-CY5-3 (Olympus 社) 等が使用できます。蛍光波長はおよそ 664 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.; Hanaoka, K.; Koide, Y.; Ujita, S.; Takahashi, N.; Ikegaya, Y.; Matsuki, N.; Terai, T.; Ueno, T.; Komatsu, T.; Nagano, T. *J. Am. Chem. Soc.* (2011) **133**, 14157-14159

CaSiR-1™ AM、CaSiR-1™ は東京大学大学院薬学系研究科薬品代謝化学教室(長野哲雄教授)のご指導の下、東京大学よりライセンスを受け、五稜化薬が製品化しました。