

一般研究用

# HMSiR-Halo

表1. 製品情報

| 品番      | 品名         | 容量      | 保存  | 安定性     |
|---------|------------|---------|---|---------|
| A201-01 | HMSiR-Halo | 15 nmol | 遮光し、 $-20^{\circ}\text{C}$ 保存<br>DMSO溶解後は使い切り | 未開封で約1年 |
| A201-02 |            | 30 nmol |   |         |

## 1. はじめに

### ■ HMSiR-Haloについて

HMSiR-Halo は生理条件下において自発的に明滅を起こす超解像イメージング用蛍光プローブです。従前の STORM に必要であったチオールや脱酸素剤等の添加、ならびに強力なレーザー照射は不要です。従って、弱い励起光照射での観測が可能となり、生理的条件下での超解像ライブセルイメージングが可能となります。Alexa Fluor® 647 を用いた観察時に必要とされてきた 405 nm のレーザー照射の必要もありません。HMSiR-Halo は HaloTag® 融合タンパク質と特異的に結合する chloroalkane 部位を有した HMSiR プローブです。細胞に発現させた HaloTag® 融合タンパク質を高い特異性で、容易に標識して観察できます。

## 2. HMSiR-Haloによる生細胞染色プロトコル

### ■ 試薬の調整および細胞染色

- ① HMSiR-Halo を無水 DMSO に溶かし、0.1–1 mM のストック溶液とします。
- ② 観測の前日に、HaloTag® 融合タンパク質を発現させた細胞を用意します。
- ③ 終濃度 0.2–100 nM の HMSiR-Halo を培養中の細胞に添加し、一晚、培養条件で作用させます。
- ④ 細胞を培養溶液にて洗浄後、ガラスボトムディッシュに植え替えます。
- ⑤ 約3時間後、細胞がガラスボトムディッシュに伸展した後に、超解像顕微鏡にて観測を行います。

※使用濃度および染色時間については細胞種および HaloTag タンパク質の種類と発現量によって異なりますので、条件検討を行ってください。

### ■ 蛍光観察

STORM顕微鏡 (N-STORM) にて細胞観察を行います。エヴァネッセント場の励起光源は647 nmレーザー100 W/cm<sup>2</sup>を使用します。用いるフィルタは、692/40 nm band pass emission filter (Semrock) 等が使用できます。Alexa Fluor® 647を用いた観察時に必要とされてきた 405 nm のレーザー照射の必要はありません。細胞は PBS 中にてそのまま観察可能です。顕微鏡のマニュアルに従って画像を約 10,000枚～50,000 枚取得します。

### ■ 保存

色素は窒素封入、乾燥状態で冷蔵出荷しております。入荷後は遮光冷凍保存 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) してください。DMSO溶解後は使い切りを推奨します。