

CaTM-2 AM

表 1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC503	CaTM-2 AM	500 µg	湿気を避け、 遮光冷凍保存	未開封で 約1年
GC504		50 µg × 10 本		
GC5041		50 µg × 5 本		

1. CaTM-2 AM について

CaTM-2 AM は TokyoMagenta 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。カルシウム濃度に応じて可逆的に、609 nm をピークとする赤色蛍光を発します。アセトキシメチルエステル基が付加されており、細胞内に取り込まれた後、細胞内のエステラーゼで分解され、膜透過性が低下するとともに、カルシウム濃度依存的な蛍光を示すようになります。

CaTM-2 の物性

Abs _{max}	597 nm
FL _{max}	609 nm
K _d (Ca ²⁺)	0.39 µM
Φ	0.20

■ 保存

CaTM-2 AM は赤褐色の固体で、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)
- ・ 10% (w/v) Pluronic F-127 in DMSO
- ・ 適切な洗浄および観察用バッファー (例: HBSS など)

■ 試薬の調製

1. CaTM-2 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。開封前にバイアルをマイクロ遠心機等で遠心し、固体を底に集めてください。
2. 室温に戻した 50 µg の CaTM-2 AM (1 バイアル) を 20% Pluronic F-127 が入った DMSO 41 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 0.03% 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 594 nm のレーザーでの励起が適しています。561 nm レーザーでも励起は可能です。600–680 nm 付近の蛍光を観察します。蛍光顕微鏡では、Y 励起用または mCherry, TexasRed 用の蛍光フィルターキューブが適合します。

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

参考文献:

表 2. 関連製品

型番	品名	主な用途
GC401 GC402	CaSiR-1	深赤色~近赤外蛍光での Ca^{2+} の検出に
GC403 GC4031	CaSiR-1 AM	深赤色~近赤外蛍光での細胞内 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。