

**You Tube**   **GoryoChemical**  
A431細胞(EGFR過剰発現細胞株)によるAcidiFluor™ ORANGE-anti-EGFR 抗体の取り込み  
RAW264.7細胞によるAcidiFluor™ORANGE-NHS標識ZymosanAの貪食

その他、多数のアプリケーション動画を公開しています。ぜひご参照ください。

AcidiFluor™ Series  
pH応答性蛍光プローブ

| 型番     | 名称                              | 容量         | 希望小売価格(円) | 備考・用途                |
|--------|---------------------------------|------------|-----------|----------------------|
| GC301  | AcidiFluor™ ORANGE              | 10 µg × 20 | 68,000    | ライソソームのライブセルイメージングに。 |
| GC3011 | AcidiFluor™ ORANGE              | 10 µg × 10 | 38,000    | ライソソームのライブセルイメージングに。 |
| GC302  | AcidiFluor™ ORANGE-NHS          | 1 mg       | 79,800    | 抗体などへの修飾に。簡単にくっつきます。 |
| GC303  | AcidiFluor™ ORANGE-NHS          | 5 回分       | 49,800    | 抗体などへの修飾に。小分けタイプ。    |
| GC304  | AcidiFluor™ ORANGE Labeling Kit | 5 回分       | 69,800    | 修飾のためのオールインワンタイプ。    |
| GC305  | AcidiFluor™ ORANGE-Zymosan A    | 1 mg       | 49,800    | ファゴサイトーシスの解析に。       |
| GC306  | AcidiFluor™ ORANGE-Dextran 10K  | 1 mg       | 69,800    | エンドサイトーシスの解析に。       |
| GC309  | AcidiFluor™ ORANGE-Transferrin  | 1 mg       | 59,800    | エンドサイトーシスの解析に。       |

※ AcidiFluor™ ORANGEは東京大学大学院医学系研究科神経生物学分野 瀬謙造教授のご指導の下、東京大学よりライセンスを受け、五稜化薬株式会社が製品化しました。なお本製品は、JST先端計測分析技術・機器開発プログラムの一環として開発されました。

**References**

T. Karasawa, A. Kawashima, F. Usui-Kawanishi, S. Watanabe, H. Kimura, R. Kamata, K. Shirasuna, Y. Koyama, A. Sato-Tomita, T. Matsuzaka, H. Tomoda, S. Y. Park, N. Shibayama, H. Shimano, T. Kasahara, M. Takahashi (2018) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* In press DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.310581.

S. Kitazawa, S. Nishizawa, H. Nakagawa, M. Funata, K. Nishimura, T. Soga, T. Hara (2017) *Cancer Sci.* **108**: 1185-1193, DOI: 10.1111/cas.13240

K. Kitakaze, Y. Mizutani, E. Sugiyama, C. Tasaki, D. Tsuji, N. Maita, T. Hirokawa, D. Asanuma, M. Kamiya, K. Sato, M. Setou, Y. Urano, T. Togawa, A. Otaka, H. Sakuraba, K. Itoh (2016) *J Clin Invest.* 85300 DOI: 10.1172/JCI85300.

A. Hayashi, D. Asanuma, M. Kamiya, Y. Urano, S. Okabe (2016) *Neuropharmacology* **100**: 66-75 DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.07.026

D. Asanuma, Y. Takaoka, S. Namiki, K. Takikawa, M. Kamiya, T. Nagano, Y. Urano & K. Hirose (2014) *Angew Chem Int Ed Engl* DOI: 10.1002/anie.201402030.

M. Isa, D. Asanuma, S. Namiki, K. Kumagai, H. Kojima, T. Okabe, T. Nagano, and K. Hirose (2014) *ACS Chem Biol* **9**(10):2237-41 DOI: 10.1021/cb500654q

R. Watanabe, N. Soga, D. Fujita, KV. Tabata, L. Yamauchi, SH. Kim, D. Asanuma, M. Kamiya, Y. Urano, H. Suga and H. Noji (2014) *Nat Commun* **5**: 4519 DOI:10.1038/ncomms5519

☒ 総合カタログダウンロードはこちら  
<https://goryochemical.com/download-catalog/>

五稜化薬   カタログダウンロード ➡



取扱店

ライソソームや  
エンドサイトーシスの蛍光イメージングに。

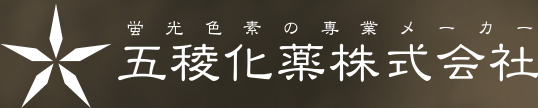
# AcidiFluor™ ORANGE Series

酸性オルガネライメージング用pHプローブ  
タンパク質・核酸標識用pHプローブ



・購読者様限定キャンペーン  
・新製品リリース情報 など  
月一回程度お届けします！

五稜化薬   メールニュース ➡



〒060-0008 札幌市中央区 北8条 西18丁目 35番地100 エアリービル5階  
TEL: 011-624-5860   FAX: 011-351-1822  
MAIL: info@goryochemical.com   URL: https://www.goryochemical.com





リソソームや酸性オルガネラのイメージングに。

## AcidiFluor™ ORANGE

- 酸性環境を高感度に検出
- オレンジ色蛍光でマルチカラーイメージングに有用
- 光褪色しにくいタイムラプスイメージングに最適

AcidiFluor™ ORANGE は、酸性環境下で蛍光が大幅に増大する蛍光イメージング用プローブです。細胞膜透過性を示し、リソソームや後期エンドソーム、膜顆粒などの酸性オルガネラを選択的に染色します。励起光照射に伴う光褪色に対しても優れた耐性を示します。また、535 nm での励起によりオレンジ色蛍光を発し、CFP, Hoechst 等の青色蛍光や GFP などの緑色蛍光、近赤外蛍光と組み合わせたマルチカラーイメージングに使用可能です。

## 特長 1 酸性環境を高感度に検出

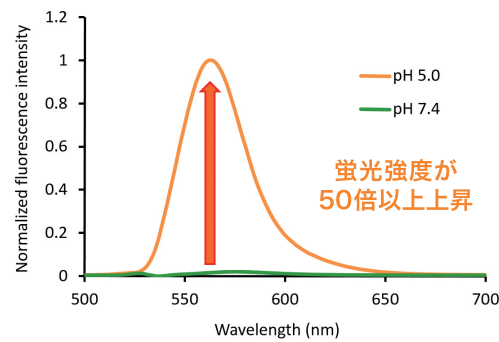


図1. AcidiFluor™ ORANGE の pH 依存性蛍光スペクトル  
pH 5 および 7.4 のリン酸緩衝液中 (0.1 M) で、AcidiFluor™ ORANGE の蛍光スペクトルを測定した。pH 5 は酸性オルガネラに、pH 7.4 は生理的環境に相当する。pH 5 における AcidiFluor™ ORANGE の蛍光強度は pH 7.4 と比較して、50 倍以上に増大した。(λ<sub>ex</sub> 532 nm / λ<sub>em</sub> 568 nm)

## 特長 2 オレンジ色蛍光でマルチカラーイメージングに有用

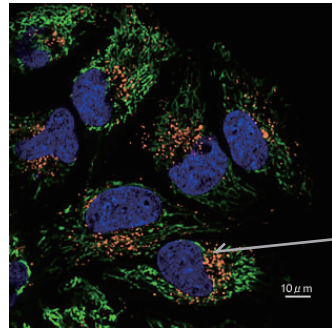


図2. HeLa 細胞を用いたマルチカラーイメージング例  
Mitochondria-GFP を発現させた HeLa 細胞を AcidiFluor™ ORANGE, Hoechst33342 で多重染色した。それぞれ、リソソームはオレンジ、核は Hoechst33342 によって青、ミトコンドリアは GFP によって緑に染色されている。

## 特長 3 光褪色しにくいタイムラプスイメージングに最適

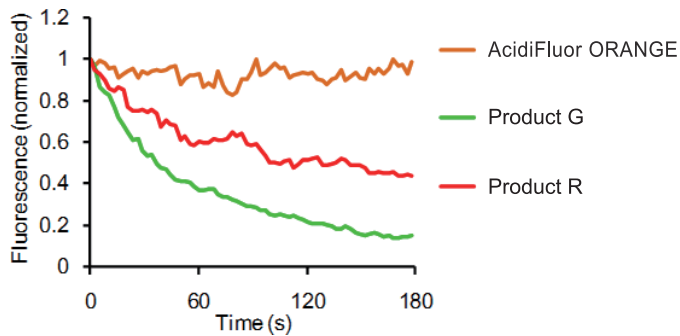


図3. 褪色性試験における他社製品との比較  
180秒間に渡る励起光照射の結果、他社製品 (Product G および Product R) は顕著に褪色するのに対し、AcidiFluor™ ORANGE は照射前と同程度の蛍光強度が維持されている。

※ AcidiFluor™ ORANGE は東京大学大学院医学系研究科 神経生物学分野 廣瀬謙造教授のご指導の下、東京大学よりライセンスを受け、五稜化薬株式会社が製品化しました。なお本製品は、JST 先端計測分析技術・機器開発プログラムの一環として開発されました。



五稜化薬のHPにて生細胞のイメージング事例など多数公開しています。  
<https://goryochemical.com/application-note/#acidifluor-series>

五稜化薬 アプリケーションノート →

| 蛍光特性                    |     |
|-------------------------|-----|
| Abs <sub>max</sub> (nm) | 535 |
| FL <sub>max</sub> (nm)  | 560 |

エンドサイトーシスやファゴサイトーシスのイメージングに。

## AcidiFluor™ ORANGE-NHS

- 混ぜるだけで標識可能
- タンパク質標識後も高いpH応答性

AcidiFluor™ ORANGE-NHS は、AcidiFluor™ ORANGE にアミノ基への標識部位を加えたタンパク質・核酸標識用 pH プローブです。N-ヒドロキシスクシンイミドエステル (NHS) を介して、抗体やタンパク質などのアミノ基と安定な共有結合を形成します。本製品は局所環境下での pH モニタリングやエンドサイトーシス・エキソサイトーシスの検出などに最適です。

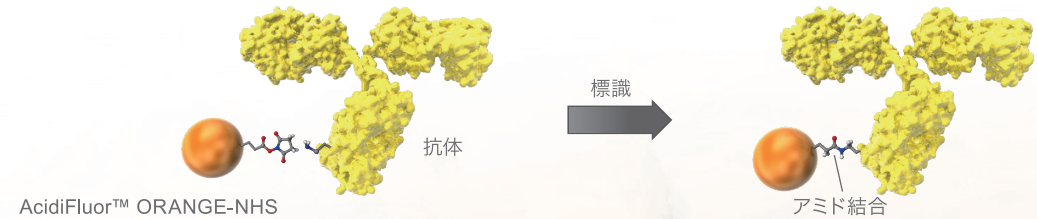


図4. AcidiFluor™ ORANGE-NHSと 抗体の反応

## 特長 タンパク標識後も明るい

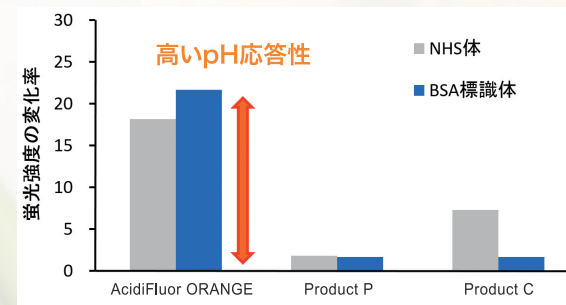


図5. 他社製品との pH 応答性の比較

pH 5 および 7.4 のリン酸緩衝液中 (0.1 M) で、各 pH プローブの NHS 体および BSA 標識体の蛍光強度を測定した。pH 5.0 における AcidiFluor™ ORANGE-NHS の蛍光強度は pH 7.4 と比較して約 20 倍に増大した。一方、Product P は約1.8倍、Product C は約 7.5 倍であり、AcidiFluor™ ORANGE-NHS がより鋭敏に酸性 pH を捉えていることが分かる。また、BSA 標識体の測定結果から、標識後の pH 応答性は AcidiFluor™ ORANGE のみ高く維持されることが示された。

AcidiFluor™ ORANGE-NHS : λ<sub>ex</sub> 532 nm / λ<sub>em</sub> 568 nm  
Product P : λ<sub>ex</sub> 560nm / λ<sub>em</sub> 582 nm  
Product C : λ<sub>ex</sub> 644 nm / λ<sub>em</sub> 667 nm

## イメージング例

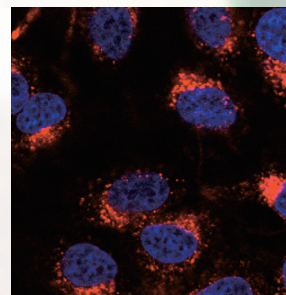


図6. HeLa細胞によるAcidiFluor™ ORANGE -Transferrin取り込み

AcidiFluor™ ORANGE-TransferrinをHeLa細胞に添加し、37℃で3時間反応させ、共焦点顕微鏡にて観察を行った。核の周辺にAcidiFluor™ ORANGE由来の蛍光が検出され、Transferrinが細胞に取り込まれ、ライソソームに移行したことが分かる。

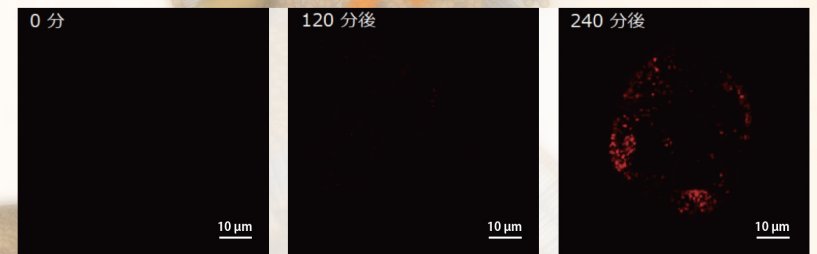


図7. A431細胞(EGFR過剰発現細胞株)によるAcidiFluor™ ORANGE-anti-EGFR 抗体の取り込み

anti-EGFR 抗体をAcidiFluor™ ORANGE-NHSと反応させ、限外ろ過により未反応色素の除去を行った。精製AcidiFluor™ ORANGE-anti-EGFR 抗体を、EGFRが過剰発現している細胞株であるA431細胞に添加し、共焦点顕微鏡にて経時的に観察を行った。抗体添加後120分でAcidiFluor™ ORANGE由来の蛍光が検出され始め、180分以降で高い蛍光強度が得られた。この手法により、AcidiFluor™ ORANGE-anti-EGFR 抗体が細胞に取り込まれ、ライソソームに移行する様子を捉えることが出来た。