

NOFluor™, ROSFluor™ series 総合カタログ

1. 一酸化窒素(NO)検出用蛍光試薬
2. 亜鉛イオン検出用蛍光試薬
3. 活性酸素(ROS)検出用蛍光試薬
4. β -ガラクトシダーゼ蛍光検出基質
5. β -グルコシダーゼ蛍光検出基質
6. β -グルクロニダーゼ蛍光検出基質
7. ニトロ化ストレス検出用蛍光試薬



蛍光色素の専門メーカー
五稜化薬株式会社

1. 一酸化窒素(NO)検出用蛍光試薬

(1) Diaminofluorescein-2 (DAF-2)

特長

- 組織や培養細胞が生成するNOをリアルタイムに観察できます。
- 可視光励起なので、生体成分由来の蛍光の影響が少なくすみまます。
- 可視光励起なので、細胞にダメージを与えません。
- 中性条件でNOを捉え蛍光を発するので、pHを変えずに測定できます。
- 高感度かつ特異的に測定できます。

測定原理

DAF-2のアミノ基がNOと反応し、励起波長495 nmで励起すると波長515 nmの緑色の蛍光を発します。

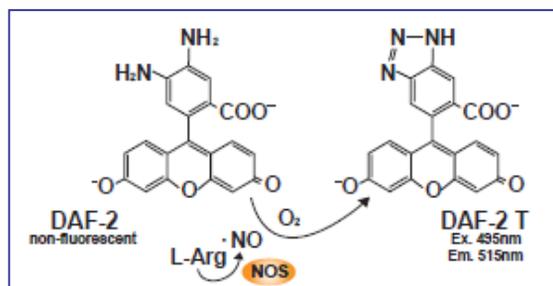
内容

DAF-2 1 mg (DMSO 0.55 mL中)

$C_{20}H_{14}N_2O_5$ 分子量: 362.3

試薬の調製例

本品は約5 mmol/Lになっております。
使用時に中性のバッファー等で500倍程度に希釈してお使いください。



●参考文献

- ・長野哲雄、小島宏建: 現代化学、9月号、No.342.23-30 (1999)
- ・Kojima, H., Nakatsubo, N., Kikuchi, K., Kawahara, S., Kirino, Y., Nagoshi, H., Hirata, Y., and Nagano, T. Anal. Chem. **70** 2446-2453, 1998.
- ・小島宏建、長野哲雄、実験医学、Vol.17, No.8 946-950 (1999)
- ・Kojima, H., Nakatsubo, N., Kikuchi, K., Kawahara, S., Kirino, Y., Nagoshi, H., Hirata, Y., Maeda D, Imai Y, Irimura T and Nagano, T. FEBS Letters, 427, 263-266, 1998.

(2) Diaminofluorescein-2 diacetate (DAF-2 DA)

特長

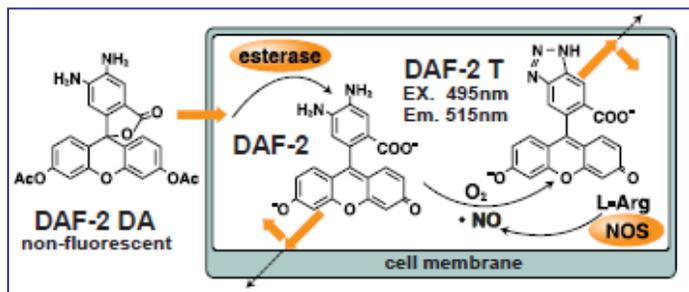
- 細胞膜透過性があり、組織や培養細胞中のNOをリアルタイムに観察できます。
- 細胞内に長時間局在化できます。
- 蛍光顕微鏡にて簡単に測定できます。
- 可視光励起なので、細胞にダメージを与えません。
- 高感度かつ特異的に測定できます。

測定原理

DAF-2 DAが細胞膜を透過し、細胞内のエステラーゼにより加水分解され、細胞膜を透過しにくいDAF-2になります。
DAF-2のアミノ基がNOと反応し、励起波長495 nmで励起すると波長515 nmの緑色の蛍光を発します。

試薬の調製例

本品は約5 mmol/Lになっております。
使用時に中性のバッファー等で500倍程度に希釈してお使いください。



●参考文献

- ・長野哲雄、小島宏建: 現代化学、9月号、No.342.23-30 (1999)
- ・Kojima, H., Nakatsubo, N., Kikuchi, K., Kawahara, S., Kirino, Y., Nagoshi, H., Hirata, Y., and Nagano, T. Anal. Chem. **70** 2446-2453, 1998.
- ・小島宏建、長野哲雄、実験医学、Vol.17, No.8 946-950 (1999)

内容

DAF-2 DA 1 mg (DMSO 0.45mL中)

$C_{24}H_{18}N_2O_7$ 分子量: 446.4

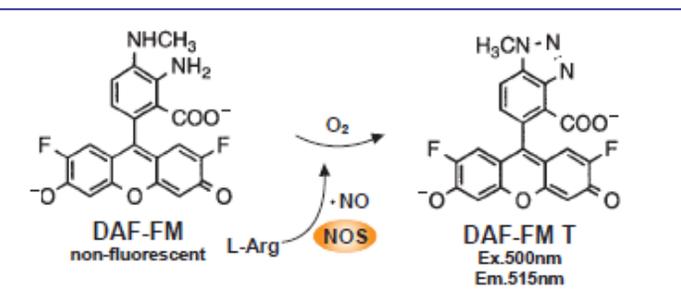
(3) Diaminofluorescein-FM (DAF-FM)

特長

- 酸性領域 (pH6) でも高い蛍光強度が得られます。
- 組織や培養細胞が生成するNOをリアルタイムに観察できます。
- 可視光励起なので、生体成分由来の蛍光の影響が少なくすみずみです。
- 可視光励起なので、細胞にダメージを与えません。
- 中性条件でNOを捉え蛍光を発するので、pHを変えずに測定できます。
- 高感度かつ特異的に測定できます。

測定原理

DAF-FMのアミノ基がNOと反応し、励起波長500 nmで励起すると波長515 nmの緑色の蛍光を発します。

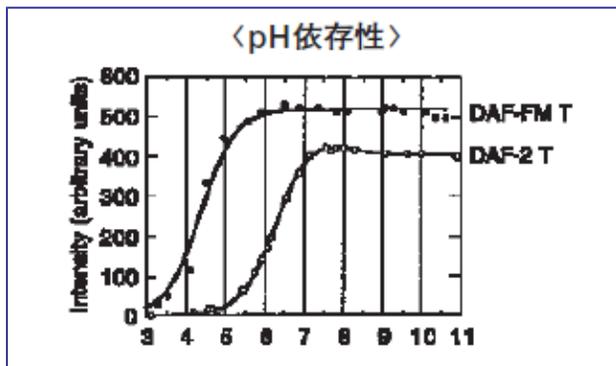


内容

DAF-FM 1mg (DMSO 0.35 mL中)
C₂₁H₁₄F₂N₂O₅ 分子量: 412.34

試薬の調製例

本品は約7 mmol/Lになっております。
使用時に中性のバッファー等で1000倍程度に希釈してお使いください。



●参考文献

- Kojima H, Urano Y, Kikuchi K, Higuchi T, Hirata Y, Nagano T Angew Chem Int Ed 1999; **38**: 3209-3212
- Kojima H, Hirata M, Kikuchi K, Kudo Y, Nagano T Journal of Neurochemistry,2001; **76**: 1404-1410

(4) Diaminofluorescein-FM diacetate (DAF-FM DA)

特長

- 酸性領域 (pH6) でも高い蛍光強度が得られます。
- 細胞膜透過性があり、組織や培養細胞中のNOをリアルタイムに観察できます。
- 細胞内に長時間局在化できます。
- 蛍光顕微鏡にて簡単に測定できます。
- 可視光励起なので、細胞にダメージを与えません。
- 高感度かつ特異的に測定できます。

測定原理

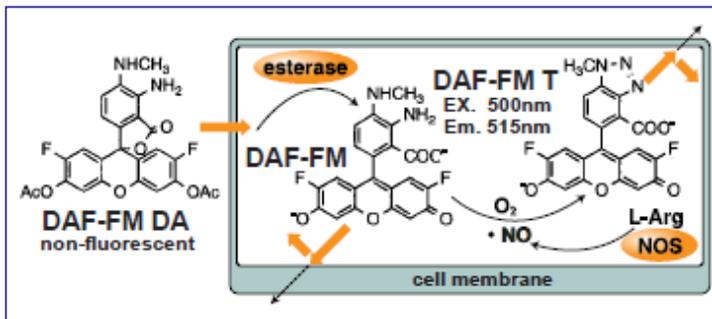
DAF-FM DAが細胞膜を透過し、細胞内のエステラーゼにより加水分解され、細胞膜を透過しにくいDAF-FMになります。
DAF-FMのアミノ基がNOと反応し、励起波長500 nmで励起すると波長515 nmの緑色の蛍光を発します。

内容

DAF-FM DA 1mg (DMSO 0.4 mL中)
C₂₅H₁₈F₂N₂O₇ 分子量: 496.42

試薬の調製例

本品は約5 mmol/Lになっております。
使用時に中性のバッファー等で500倍程度に希釈してお使いください。



●参考文献

- Kojima H, Urano Y, Kikuchi K, Higuchi T, Hirata Y, Nagano T Angew Chem Int Ed 1999; **38**: 3209-3212
- Kojima H, Hirata M, Kikuchi K, Kudo Y, Nagano T Journal of Neurochemistry,2001; **76**: 1404-1410

(5) Diaminorhodamine-4M (DAR-4M)

特長

- 組織や培養細胞が生成するNOをリアルタイムに観察できます。
- 長波長で励起でき、細胞の自家発光領域とは、ほとんど重なりません。
- pH4~pH12において蛍光の減弱がほとんどありません。

測定原理

DiaminorhodamineがNOと反応し、励起波長560 nmで励起すると波長575 nmのオレンジ色の蛍光を発します。

内容

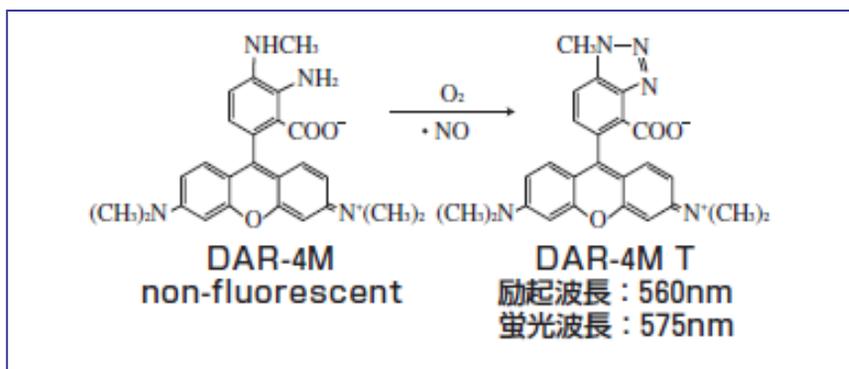
DAR-4M 1mg (DMSO 0.47mL中)
 $C_{25}H_{26}N_4O_3$ 分子量: 430.50

試薬の調製例

本品は約5 mmol/Lになっております。
使用時に中性のバッファー等で500倍程度に希釈してお使いください。

●参考文献

Kojima, H., Hirotsu, M., Nakatsubo, N., Kikuchi, K., Urano, Y., Higuchi, T., Hirata, Y., Nagano, T. Anal. Chem. 2001; **73**: 1967-1973



(6) Diaminorhodamine-4M acetoxymethyl ester (DAR-4M AM)

特長

- 細胞膜透過性があり、組織や培養細胞中のNOをリアルタイムに観察できます。
- 長波長で励起でき、細胞の自家発光領域とは、ほとんど重なりません。
- pH4~pH12において蛍光の減弱がほとんどありません。

測定原理

DiaminorhodamineがNOと反応し、励起波長560 nmで励起すると波長575 nmのオレンジ色の蛍光を発します。

内容

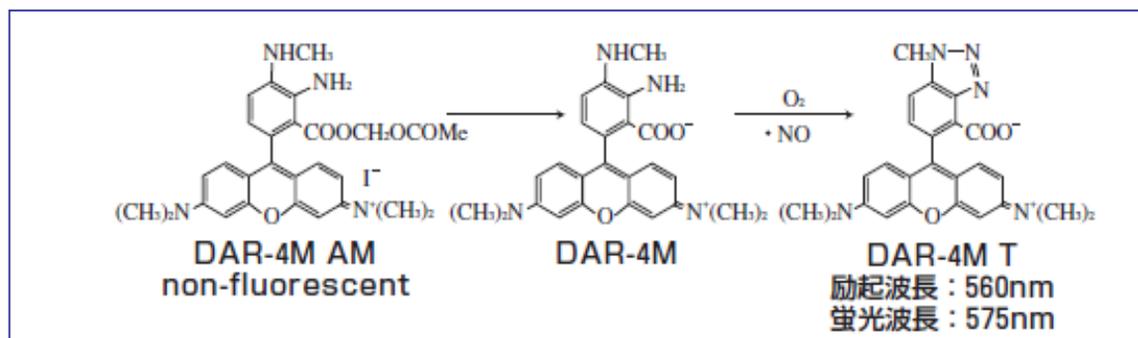
DAR-4M AM 1mg (DMSO 0.32 mL中)
 $C_{28}H_{31}N_4O_5$ 分子量: 630.47

試薬の調製例

本品は約5 mmol/Lになっております。
使用時に中性のバッファー等で500倍程度に希釈してお使いください。

●参考文献

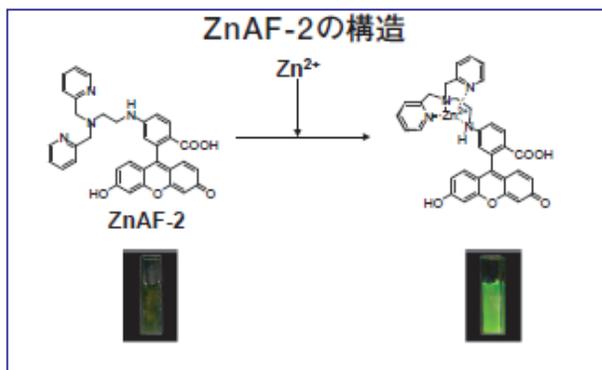
Kojima, H., Hirotsu, M., Nakatsubo, N., Kikuchi, K., Urano, Y., Higuchi, T., Hirata, Y., Nagano, T. Anal. Chem. 2001; **73**: 1967-1973



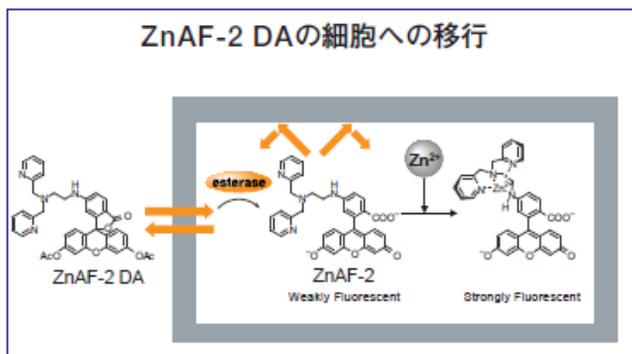
2. 亜鉛イオン検出用蛍光試薬

ZnAF-2 / ZnAF-2 DA

ZnAF-2は、蛍光色素フルオレセインにTPEN類縁体を結合させ、Zn²⁺への高い特異性を有しています。



ZnAF-2は水溶性が高いため、細胞膜を透過しませんが、ZnAF-2 DAはアセチル基の導入により細胞内への移行性を高め、エステラーゼによる脱アセチル化より細胞内への貯留を長時間可能にしました。



特長

- 亜鉛イオンとの親和性が強く、低濃度の亜鉛イオンの検出が可能です。(解離定数2.7 nM)
- 試薬中の亜鉛イオンを特異的に検出します。
- バックグラウンド蛍光が低く高感度に生体試料中の亜鉛イオンを可視化できます。
- ZnAF-2 DAは膜透過性があり、生きた細胞、組織でのバイオイメージングが可能です。
- ZnAF-2 DAは細胞内に入るとエステラーゼの活性により脱アセチル化し、細胞内に長時間貯留します。

測定原理

TPEN類縁体を結合させたフルオレセイン誘導体(ZnAF-2)とZn²⁺が反応したサンプルに、励起波長492 nmで励起すると波長515 nmの緑色の蛍光を発します。

参考文献

- Hirano, T.; Kikuchi, K.; Urano, Y.; Higuchi, T.; Nagano, T. J. Am. Chem. Soc. 2000, **122**, 12399-12400
- Hirano, T.; Kikuchi, K.; Urano, Y.; Nagano, T. J. Am. Chem. Soc. 2002, **124**, 6555-6562
- Ueno, S.; Tsukamoto, M.; Hirano, T.; Kikuchi, K.; Yamada, M.K.; Nishiyama, N.; Nagano, T. Matsuki, N.; Ikegaya, Y. J. Cell. Biol. 2002, **158**, 215-220

内容

ZnAF-2 1 mg (DMSO 0.28mL中)

C₃₄H₃₂Cl₄N₄O₅ 分子量: 718.45

ZnAF-2 DA 1mg (DMSO 0.28mL中)

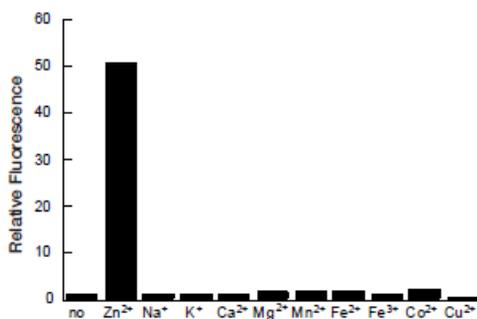
C₃₈H₃₂N₄O₇ 分子量: 656.23

試薬の調製例

本品は約5 mmol/Lになっております。

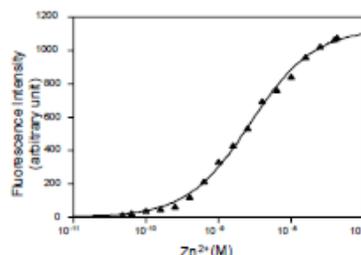
使用時に中性のバッファー等で1000倍程度に希釈してお使いください。

各種金属イオン添加によるZnAF-2の蛍光強度変化



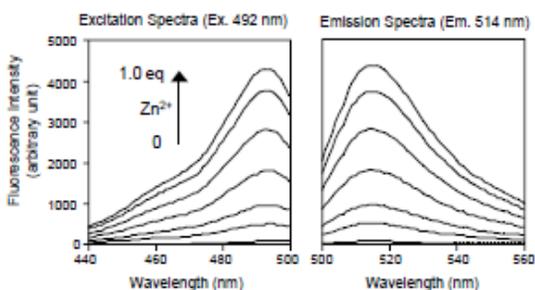
5 μ MのZnAF-2をpH 7.4の緩衝液 (100mM HEPES Buffer) に溶解、金属イオン無添加時の蛍光強度を1とした (金属イオン添加濃度; Zn²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Co²⁺, Cu²⁺ 5 μ M; Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ 5mM)

Zn²⁺添加によるZnAF-2の蛍光強度変化



1 μ MのZnAF-2をpH 7.4の緩衝液 (100 mM HEPES Buffer) に溶解

ZnAF-2の励起・蛍光スペクトル



5 μ M ZnAF-2をpH 7.4の緩衝液 (100mM HEPES Buffer) に溶解 試料: 硫酸亜鉛 (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 μ M)

3. 活性酸素(ROS)検出用蛍光試薬

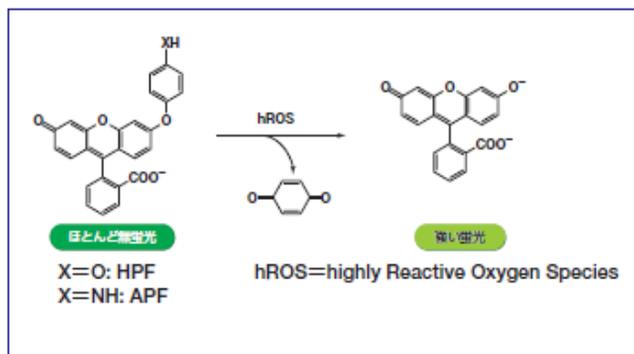
Hydroxyphenyl Fluorescein (HPF) / Aminophenyl Fluorescein (APF)

特長

- ヒドロキシルラジカル ($\cdot\text{OH}$)、パーオキシナイトロイト (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 ($\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $^1\text{O}_2$ 、 NO 等) から区別して検出できます。
- HRPの添加により、過酸化水素 (H_2O_2) の定量が可能です。
- HPF、APFの併用により次亜塩素酸イオンを特異的に検出できます。
- 光励起による自動酸化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。

測定原理

HPF, APFは中性水溶液中でほとんど蛍光を持ちませんが、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490 nm、蛍光波長515 nm) が生成し、蛍光強度の増大が観測されます。



使用方法

本品は1 mgがN,N-dimethylformamide (DMF) 0.47 mL中に溶解されています。濃度は5 mmol/Lです。使用時にリン酸バッファー (0.1 mol/L, pH 7.4) 等で500~5000倍 (10~1 μmol/L) 程度に希釈してご使用ください。

試料に調製液を添加し、一定時間反応させた後、励起波長490 nm、測定波長515 nmで蛍光を測定します。

参考文献

Setsukinai K., Urano Y., Kakinuma K., Majima H.J. and Nagano T. (2003) J. Biol. Chem. 278, 3170-3175

HPF、APFおよびDCFHと活性酸素種との反応性

▼蛍光プローブ試薬 (最終濃度10 μM、コソルベントとして0.1% DMFを添加) のリン酸バッファー (0.1 M, pH 7.4) 溶液に以下の活性酸素種生成系を加えた。

▼HPF, APF, DCFHの蛍光強度はそれぞれ励起波長490, 490, 500 nm、測定波長515, 515, 520 nmで測定した。

ROS	HPF	APF	DCFH
$\cdot\text{OH}^{\text{a}}$	730	1200	7400
$\text{ONOO}^{-\text{b}}$	120	560	6600
OCl^{c}	6	3600	86
$^1\text{O}_2^{\text{d}}$	5	9	26
$\text{O}_2^{\cdot\text{e}}$	8	6	67
$\text{H}_2\text{O}_2^{\text{f}}$	2	<1	190
NO^{g}	6	<1	150
$\text{ROO}^{\cdot\text{h}}$	17	2	710
Autoxidation ⁱ	<1	<1	2000

a 過塩素酸鉄(II)100μM H₂O₂ 1 mMを加えた。

b ONOO⁻を3μM(最終濃度)加えた。

c NaOClを3μM(最終濃度)加えた。

d 3-(1,4-Dihydro-1,4-epidioxo-1-naphthyl)propionic acidを100μM加えた。

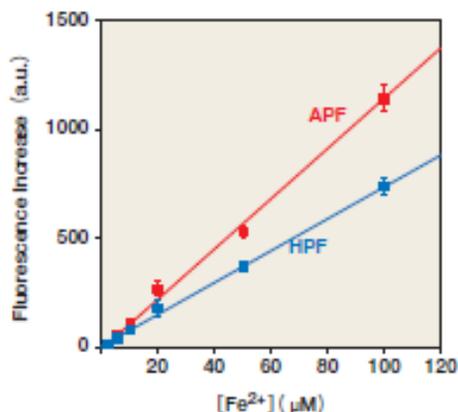
e KO₂を100μM加えた。

f H₂O₂を100μM加えた。

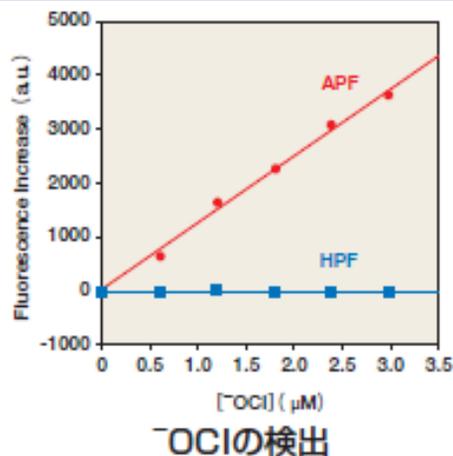
g 1-Hydroxy-2-oxo-3-(3-aminopropyl)-3-methyl-1-triazeneを100μM加えた。

h 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochlorideを100μM加えた。

i 蛍光プローブ試薬溶液に蛍光灯光を2.5時間照射した。



Fenton反応で生成する $\cdot\text{OH}$ の検出



OCl⁻の検出

①光励起による自動酸化の検討

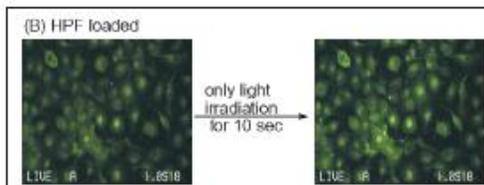
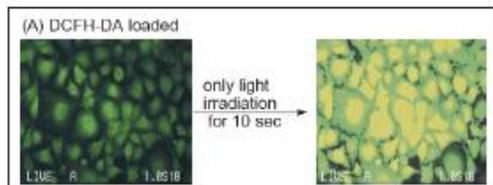
<蛍光プローブ試薬添加>

▼細胞にHPFまたはDCFH-DA (10 μM) を加えて、暗所で37°C, 30分間インキュベートした。

<蛍光測定>

▼共焦点蛍光顕微鏡で測定した (励起波長488 nm、蛍光検出515 nm以上)。

▼次に、細胞に488 nmのレーザーを10 秒間照射し、再度測定した。



◀ DCFHと比較すると、自動酸化の程度が極めて小さいことが明らかです。

②ブタ好中球のバイオイメージング

<ブタ好中球の調製>

▼ブタ血液より好中球を分離した。

▼分離した好中球はKrebs-Ringer リン酸バッファー (114 mM NaCl, 4.6 mM KCl, 2.4 mM MgSO₄, 1 mM CaCl₂, 15 mM NaH₂PO₄/Na₂HPO₄, pH 7.4) 中に懸濁させ、使用するまで氷冷した。次いでディッシュに移した。

<プローブ試薬添加とPMAによる刺激>

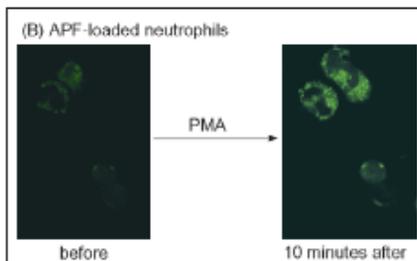
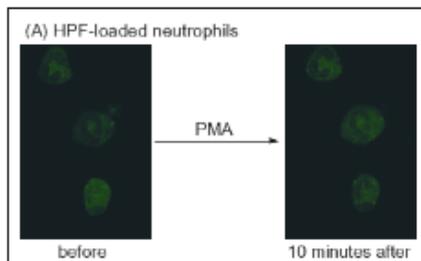
▼HPFあるいはAPF (10 μM) を加えて、室温で30分間インキュベートした。

▼蛍光プローブ試薬を加えた好中球は4β-phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) (2 ng/mL, 0.1% DMFをソルベントとして含む) によって刺激した。

<好中球のバイオイメージング>

▼PMA刺激前と刺激10分後に共焦点蛍光顕微鏡で測定した。

(励起波長488 nm、測定505-550 nmフィルター使用)



◀ HPFを添加した好中球では、PMA刺激によって蛍光強度が変化しなかったのに対し、APFの場合は著しく増大しました。

◀ これは好中球のMPO (myeloperoxidase) により、PMA刺激後に生成した⁺OCl⁻を他のROSから区別して、選択的に可視化できることを示しています。

③HPFとAPFの酵素系(HRP/H₂O₂系)への適用

<反応のタイムコース>

▼蛍光プローブ試薬 (最終濃度 10 μM、ソルベントとして0.1%

DMFを添加) の0.2 μM HRP含有リン酸バッファー (0.1M, pH

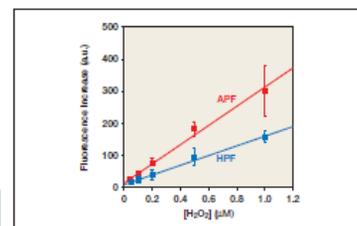
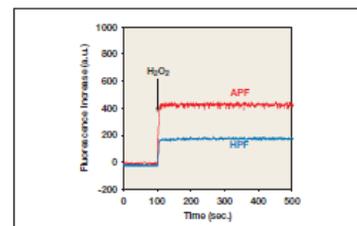
7.4) 溶液にH₂O₂を1μM加えた。

▼HPFおよびAPFの蛍光強度は励起波長490 nm、測定波長515 nmで測定した。

<反応の直線性>

▼H₂O₂を最高濃度1 μMまで加えた。

▼HPFおよびAPFの蛍光強度は励起波長490 nm、測定波長515 nmで測定した。



▶ H₂O₂添加直後に蛍光強度は増大し、かつH₂O₂濃度と蛍光強度の間に直線関係が認められました。

4. β-ガラクトシダーゼ蛍光検出基質

TokyoGreen®-β Gal

TokyoGreen®-βGalは、細胞膜透過性のβ-ガラクトシダーゼ検出用の蛍光基質 (9-(4'-methoxy-2'-methylphenyl)-6-(β-D-galactopyranosyloxy)-xanthen-3-one) です。TokyoGreen®-βGalは生細胞中に取り込まれるため、細胞の溶解、固定化が必要なく、*lacZ*遺伝子をマーカー遺伝子とした遺伝子導入法の検討、導入遺伝子発現のコントロール、クローニング細胞のセレクションに有用です。

特長

- 生細胞中のβ-ガラクトシダーゼ活性を新規の蛍光基質TokyoGreen®-βGalを用いて高感度に検出できます。
- TokyoGreen®-βGalは細胞膜透過性です。このため従来のONPGを用いた呈色反応のように細胞を溶解する必要がありません。2ウェル培養は不要です。
- 反応バッファー全体から均一に蛍光が得られるため、蛍光分光光度計、蛍光プレートリーダーによる測定も可能です。
- 反応後、数回培地交換することで検出に用いた試薬が細胞内から除去されますので、β-ガラクトシダーゼ活性を測定後、引き続き培養を継続できます。

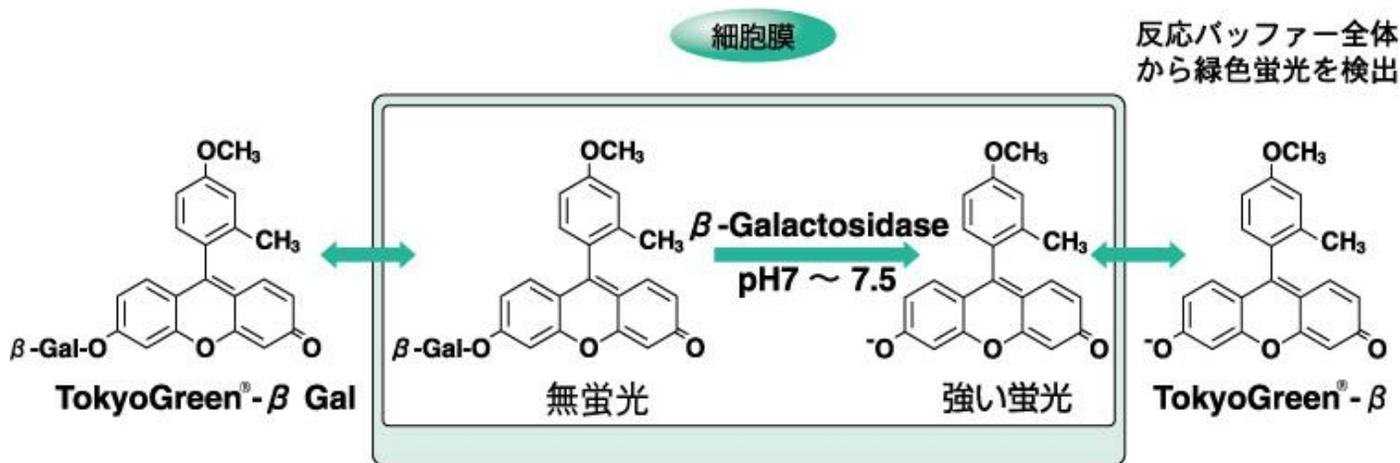
測定原理

無蛍光性のTokyoGreen®-βGalはβ-ガラクトシダーゼ産生細胞に取り込まれたのち、β-ガラクトシダーゼにより加水分解を受け、蛍光波長510 nmの強い蛍光を発するTokyoGreen®を生成します。TokyoGreen®もTokyoGreen®-βGalと同様に細胞膜透過性です。このため生成したTokyoGreen®は細胞膜を透過して反応バッファーに均一に拡散し、励起光 (490 nm) を照射すると反応バッファー全体が緑色蛍光 (510 nm) を発します。

内容

TokyoGreen®-βGal 1 mg (DMSO 0.4 mL中, 5 mM)

C₂₇H₂₆O₉ 分子量: 494.49



●参考文献

・Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano : J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 4888-4894

・“バイオイメージングとケミカルバイオロジー” 長野哲雄、浦野泰照、神谷真子、細胞工学、24(11)、1187-1191 (2005)。

5. β -グルコシダーゼ蛍光検出基質

TokyoGreen[®]- β Glu

TokyoGreen[®]- β Gluは β -グルコシダーゼ検出用の蛍光基質 [9- (4'-methoxy-2'-methylphenyl) -6- (β -D-glucopylanosyloxy) -xanthen-3-one] です。無蛍光性のTokyoGreen[®]- β Gluは β -グルコシダーゼにより加水分解を受け、蛍光性のTokyoGreen[®]を生成します。

特長

- β -グルコシダーゼ活性を新規の蛍光基質TokyoGreen[®]- β Gluを用いて高感度に検出できます。
- 蛍光基質TokyoGreen[®]- β Gluが β -グルコシダーゼと反応して生成するTokyoGreen[®]は、中性領域以上のpHで安定して強い蛍光性を発します (図1)。
- 蛍光強度は β -グルコシダーゼ量に比例して増大します (図2)。

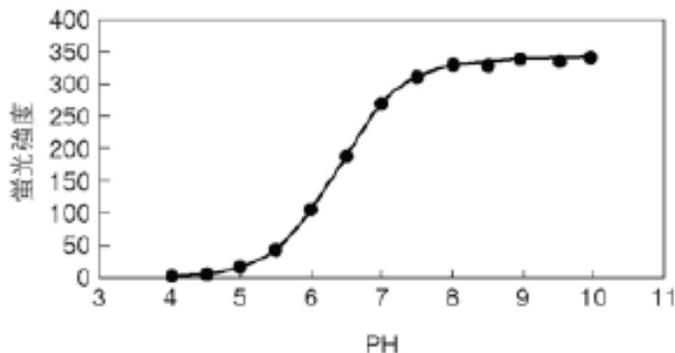


図1. TokyoGreen[®]のPH特性

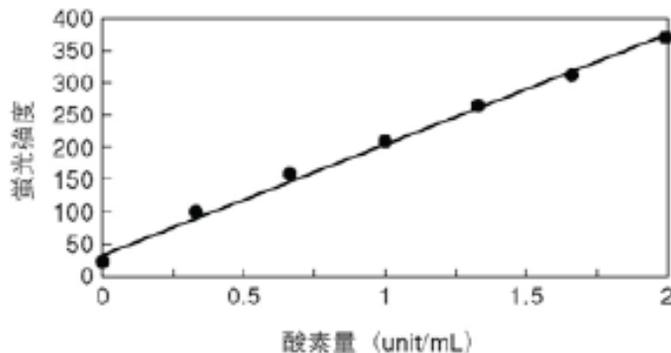


図2. TokyoGreen[®]- β Gluを用いた β -グルコシダーゼの検出

TokyoGreen[®]- β Glu (5 mM, DMSO溶液) を10 mM, Phosphate Buffer (pH7.0) で10 μ Mに希釈し、 β -Glucosidase (Almond) を添加後500秒の蛍光強度 (Ex. 492 nm, Em. 510 nm) を測定しました。

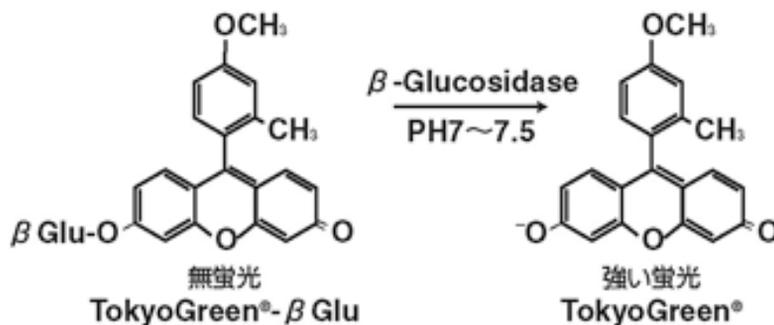
測定原理

無蛍光性のTokyoGreen[®]- β Gluは β -グルコシダーゼにより加水分解を受け、蛍光性のTokyoGreen[®]を生成します。TokyoGreen[®]は励起光 (490 nm) を照射すると蛍光波長510 nmの強い蛍光を発します。

内容

TokyoGreen[®]- β Glu 1mg (DMSO 0.4 mL中, 5 mM)

C₂₇H₂₆O₉ 分子量: 494.49



参考文献

•Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano, J. Am. Chem. Soc., 127, 4888-4894 (2005).

6. β -グルクロニダーゼ蛍光検出基質

TokyoGreen[®]- β GlcU (Na)

TokyoGreen[®]- β GlcU (Na) は、 β -グルクロニダーゼ検出用の蛍光基質 [9-(4-methoxy-2-methylphenyl)-6-oxo-6Hxanthen-3-yl- β -D-glucuronide, sodium salt] です。無蛍光性のTokyoGreen[®]- β GlcU (Na) は β -グルクロニダーゼにより加水分解を受け、蛍光性のTokyoGreen[®]を生成します。

特長

- β -グルクロニダーゼ活性を新規の蛍光基質TokyoGreen[®]- β GlcU (Na) を用いて高感度に検出できます。
- 蛍光基質TokyoGreen[®]- β GlcU (Na) が β -グルクロニダーゼと反応して生成するTokyoGreen[®]は、中性領域以上のpHで安定して強い蛍光性を発します (図1)。
- 蛍光強度は β -グルクロニダーゼ量に比例して増大します (図2)。

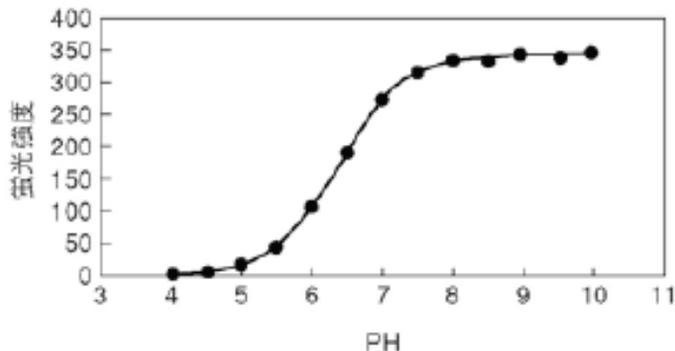


図1. TokyoGreen[®]のPH特性

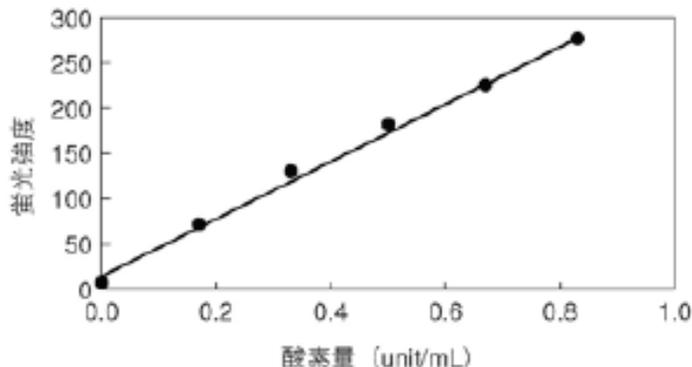


図2. TokyoGreen[®]- β GlcU (Na) を用いた β -グルクロニダーゼの検出

TokyoGreen[®]- β GlcU (Na) (5 mM, DMSO溶液) を10 mM, Phosphate Buffer (pH 7.0) で5 μ MIに希釈し、 β -Glucuronidase (*Escherichia coli*, Type IX-A) を添加後360秒の蛍光強度 (Ex. 492 nm, Em. 510 nm) を測定しました。

測定原理

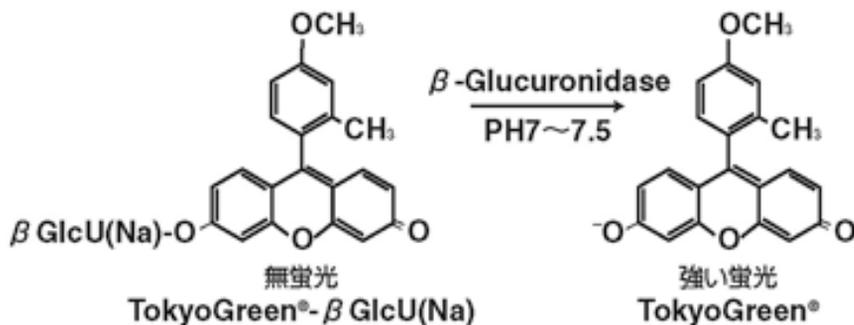
無蛍光性のTokyoGreen[®]- β GlcU (Na) は β -グルクロニダーゼにより加水分解を受け、蛍光性のTokyoGreen[®]を生成します。

TokyoGreen[®]は励起光 (490 nm) を照射すると蛍光波長510 nmの強い蛍光を発します。

内容

TokyoGreen[®]- β GlcU(Na) 1mg (DMSO 0.38mL中,5mM)

C₂₇H₂₃NaO₁₀ 分子量: 530.46



参考文献

•Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano, J. Am. Chem. Soc., 127, 4888-4894 (2005).

7. ニトロ化ストレス検出用蛍光試薬

NiSPY-3 (Nitrate Stress Sensing Pyrromethene Dye)

NiSPY-3は、蛍光法によるニトロ化ストレス検出試薬です。活性酸素検出試薬として用いる場合、NiSPY-3はパーオキシナイトライト (ONOO^-) と特異的に反応し、蛍光強度が大きく増加します。

特長

- 活性酸素種 ($\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $^1\text{O}_2$, NO 等) の中でもパーオキシナイトライト (ONOO^-) に特異的に反応します。ヒドロキシラジカル、一重項酸素、過酸化水素、次亜塩素酸イオン、一酸化窒素、スーパーオキシドでは蛍光強度が増加しません。
- 生細胞蛍光イメージングが可能です。

測定原理

NiSPY-3は中性水溶液中でほとんど蛍光を持ちませんが、パーオキシナイトライト反応すると、強蛍光性化合物に変化し(励起波長490 nm、蛍光波長515 nm)、蛍光強度の増大が観測されます。

内容

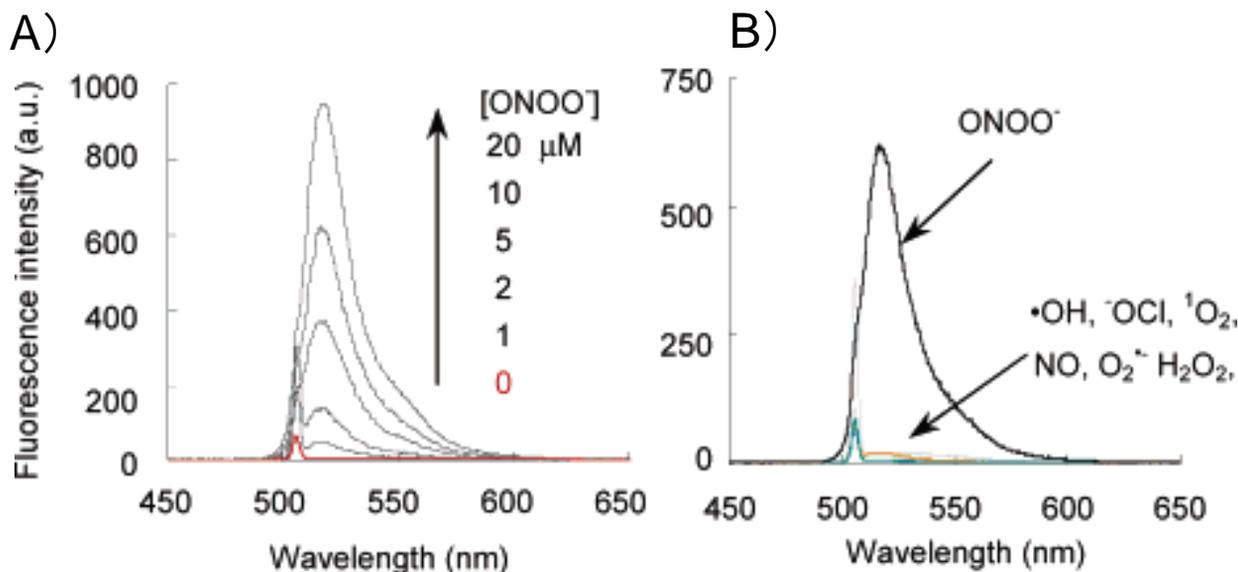
NiSPY-3 1 mg (粉末)

$\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_4$ 分子量: 464.23

試薬の調製例

使用時に全量をDMSO (430 μL) に溶解後 (約5 mM)、さらに緩衝液等で500~5000倍程度 (最終濃度 約10~1 mM) に希釈してご使用ください^{注1)}。

注1) 希釈緩衝液および使用濃度につきましては、目的の用途に応じて検討してからご使用ください。希釈調製後は直ちに使用し、使いきりとしてください。



A) Fluorescence spectra of NiSPY-3 solution (10 μM NiSPY-3 in 0.1 M phosphate buffer pH 7.4 containing 0.1% DMF as a cosolvent) upon addition of peroxynitrite (final 0, 1, 2, 5, 10, 20 μM).

B) Fluorescence response of NiSPY-3 in various ROS generation systems

● 参考文献

T. Ueno, Y. Urano, H. Kojima and T. Nagano: J. Am. Chem. Soc., 128, 10640-10641 (2006)

型番	名称	容量	価格 (円)	貯法
SK1001-01	Diaminofluorescein-2 (DAF-2)	1 mg	30,000	-20°C (遮光)
SK1002-01	Diaminofluorescein-2 diacetate (DAF-2 DA)	1 mg	30,000	
SK1003-01	Diaminofluorescein-FM (DAF-FM)	1 mg	35,000	
SK1004-01	Diaminofluorescein-FM diacetate (DAF-FM DA)	1 mg	35,000	
SK1005-01	Diaminorhodamine-4M (DAR-4M)	1 mg	35,000	
SK1006-01	Diaminorhodamine-4M acetoxymethyl ester (DAR-4M AM)	1 mg	40,000	
SK2001-01	ZnAF-2	1 mg	25,000	2~10°C (遮光)
SK2002-01	ZnAF-2DA	1 mg	25,000	-20°C (遮光)
SK3002-01	Aminophenyl Fluorescein (APF)	1 mg	30,000	2~10°C (遮光)
SK3001-01	Hydroxyphenyl Fluorescein (HPF)	1 mg	30,000	
SK4001-01	TokyoGreen-β Gal	1 mg	30,000	-20°C (遮光)
SK4002-01	TokyoGreen-β Glu	1 mg	20,000	
SK4003-01	TokyoGreen-β GlcU (Na)	1 mg	20,000	
SK3003-01	NiSPY-3	1 mg	40,000	-20°C (遮光)

2017年1月現在の希望小売価格です。上記価格に消費税は含まれておりません。

■販売元



五稜化学株式会社

【お問い合わせ先】

〒060-0008

北海道札幌市中央区北8条西18丁目35番地100

エアリービル5F

TEL: 011-624-5860 FAX: 011-351-1822

<http://goryochemical.com/>

■取扱店