

# EP-HMRG

表 1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC811	EP-HMRG	30 nmol × 5 本	湿気を避け、遮光冷凍保存	未開封で約 1 年

## 1. EP-HMRG について

EP-HMRG は pH 7 以上ではほとんど無蛍光ですが、EP (グルタミン酸、プロリン) のペプチド配列を消化できるプロテアーゼを高発現している細胞や組織表面で分解され、非可逆的に緑の蛍光物質に変化します。生成した蛍光物質はすみやかに近くにある細胞内に取り込まれるため、組織などにおけるプロテアーゼ高発現領域を蛍光で検出できます。生成した蛍光物質は膜透過性が高く、細胞内のリソソームに局在します。

### ■ 保存

色素は窒素封入、乾燥状態で出荷しております。入荷後は遮光し  $-20^{\circ}\text{C}$  以下で冷凍保存してください。溶解後は原則として使い切ってください。溶液で保存した試薬の安定性や活性は保証しておりません。



### ■ 取り扱いに関する注意

EP-HMRG は酸性溶液中ではプロテアーゼによる分解とは異なるメカニズムで蛍光を発します。pH 7 以上の中性～弱塩基性の溶液で希釈してください。また、室温以上の高温で分解されて蛍光物質が生成しますので、溶解後はすぐにご使用ください。溶液を一時的に保管する場合、水溶液として氷上で保管するか、DMSO 溶液として凍結して保管し、できるだけ早くご使用ください。

## 2. イメージング例

### ■ 試薬の調製

- EP-HMRG はオレンジ色の固体です。輸送中に試薬がキャップに付着していることがありますので、キャップを開ける前にチューブをマイクロ遠心機等で遠心してください。
- 室温に戻した 1 バイアルを 30  $\mu\text{L}$  の DMSO または PBS 等に溶解し、1 mM 溶液を作成します。希釈には中性のバッファーまたは RPMI-1640 などの細胞培養培地を使用し、希釈後はすぐにご使用ください。

■ 細胞との反応

1. 1 mM の EP-HMRG を HBSS または RPMI-1640 などで 1-2  $\mu$ M に希釈します。
2. 細胞を培養しているガラスボトムディッシュなどから培地を取り除き、上記の EP-HMRG 溶液を添加します。
3. 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件で5分から30分程度インキュベートします。EP のペプチド配列を消化できるプロテアーゼを高発現している細胞の場合は5分から15分程度で蛍光強度の十分な増加が観察されません。
4. 通常バックグラウンド蛍光は非常に低いため、そのまま観察も可能です。その場合、観察中も酵素反応

が進行し、蛍光が増大することがあります。蛍光増大を防ぐためには、EP-HMRG を含む溶液を取り除き、HBSS などの観察用バッファーに置換して観察してください。ただし、繰り返し洗浄すると、蛍光強度が低下することがあります。

■ 蛍光観察

蛍光顕微鏡では、一般的な GFP または FITC 用などの B 励起フィルターセットで観察できます。レーザー励起の場合は 488 nm で励起して、525 nm 付近の蛍光を観察してください。

表 2. 関連製品

型番	品名	主な用途
GC6000	HMRG	Hydroxymethyl rhodamine green (緑の蛍光色素)
A101-01	MAR	細胞の低酸素応答の検出に
GC301	AcidiFluor™ ORANGE	オレンジ色蛍光のリソソームマーカー
SK3002-01 SK3002-02	APF	緑色蛍光による酸化ストレス検出に
GC3004-01	OxiORANGE™	オレンジ色蛍光による酸化ストレス検出に