

細胞生物学研究および バイオイメーjing用試薬

内容：

技術上のヒント

核酸染色剤

細胞骨格用プローブ

ミトコンドリアマーカー

小胞体およびゴルジ体用プローブ

酸性オルガネラおよびエンドサイトーシス用プローブ

長期の細胞追跡研究用プローブ

レクチンコンジュゲート

特殊研究用製品



フルオロフォアの色の選択

図1に、400 nmから700 nmまでの連続波長における発光スペクトルとカラーコードの対応を示します。



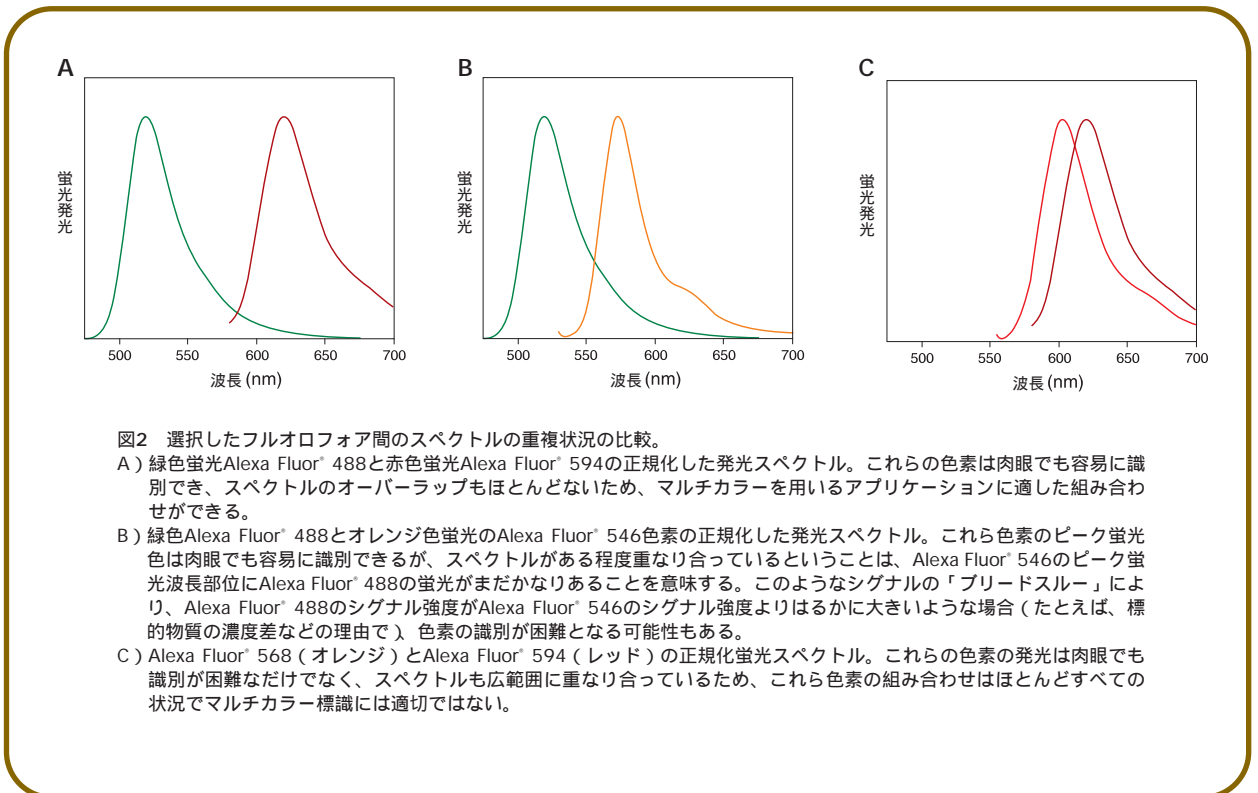
図1

このカラーコードは、標準的な蛍光顕微鏡の接眼レンズを通して色素を観察した場合に見える色を大別して示したものです。なぜなら、接眼レンズを通して見える実際の色には、環境条件や色素観察に用いるフィルターが影響するからです。また、人間の視覚は650 nmを超えると急激に低下してくるので、当社の近赤外色素の蛍光は肉眼では識別しにくくなります。このため、この範囲の色素は都合上、赤紫色および紫色として表示しています。

マルチカラー標識化のための色素の選び方

二色以上の蛍光色を用いる場合、プローブ間のスペクトルの重複を最少限にする必要があります（すなわち、スペクトルを最大限に分離します）。こうすることでプローブのシグナルが分離しやすくなります。可能であれば、存在量の少ない標的対象ほど、最も安定で最も明るいプローブをお選びください。一般的に緑色や赤色の蛍光色素の方が、青色や近赤外色の色素より明るく見えます。

色素間のスペクトル分離状況は、図1のカラーコードからスペクトルに対応させてお選びください。さらに詳しく比較するには、その色素の発光スペクトル全体を比べてみます（図2）。当社のほとんどの製品のスペクトルはWebサイト（www.invitrogen.com）からご覧いただけます。



技術上のヒント

- ・フィルターを選択するには - 蛍光プローブの吸収スペクトルや蛍光スペクトルは、一般的には対称形をしています。ほとんどの色素が、吸収のピーク波長よりはるかに低波長側においても引き続きかなりの吸収を示し、発光のピーク波長より長波長側でもさらに発光します。フルオロフォアからのシグナルを最大限に強化するには、一般的にはスペクトルごとに分かれた、吸収および発光のピーク波長よりわずかに外れたフィルターをお選びになることをお勧めします（図3）。
- ・光褪色を低減するには - 長時間光源に露出しておくと、光褪色が生じます。これはフルオロフォアを破壊する非可逆的プロセスです。多くのイメージング法では照射時間を長くすることが必要であるため、使用したい波長をみることでできる色素のなかから、光に対して最も安定なものを選ぶことが重要です。インビトロジェンのフルオロフォア（特許所有）特に Alexa Fluor® シリーズの色素の多くは、同様なフルオロフォアに比べて光安定性が向上しています。光褪色の低減には褪色防止剤（下記参照）をお使いください。

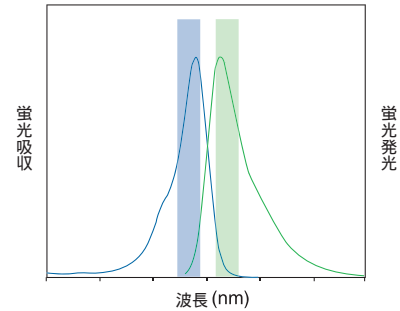


図3 ある蛍光色素の代表的な吸収（青）および発光（緑）スペクトル。スペクトル曲線の対称性が示されている。色の濃い部分は、色素からのシグナルを最強にするよう最適化した吸収および発光用の帯域通過フィルターを表わす。

褪色防止剤

インビトロジェンの褪色防止剤ならば、シグナルの安定性を向上し、イメージングの時間を延長することができます。褪色防止用封入剤は、次のような便利なキットでもご利用になれます。

- ・ **SlowFade® Antifade Kit (S-2828)** および **SlowFade® Antifade Kit with DAPI (S-24635)** : この **SlowFade®** 試薬は、そのまますぐに使用可能。グリセロールをベースとした非恒久的な封入剤を用いて脱色を最大限に防止します。この封入剤には、最も広く用いられている核対比染色剤の一種である DAPI を加えたものと加えていないものがあります。

- ・ **SlowFade® Light Antifade Kit (S-7461)** および **SlowFade® Light Antifade Kit with DAPI (S-24636)** : この **SlowFade®** 試薬は、シグナル強度の確保が重要な場合にお使いいただけるよう考案され、シグナルの初期の明るさを損なうことなく、光褪色を防止します。封入剤は、DAPI を加えたものと加えていないものがあります。
- ・ **ProLong® Antifade Kit (P-7481)** : これは当社最高のオールラウンドな褪色防止剤であり、すぐれた光褪色防止作用を誇る恒久的な封入剤です（図4参照）。使用する直前に調製して下さい。

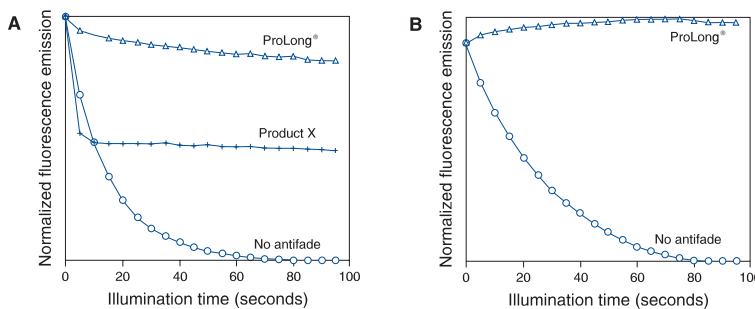


図4 細胞サンプル内における A) フルオレセインおよび B) Texas Red® コンジュゲートの脱色の様子。これら光褪色反応実験では、ヒト表皮細胞 (Hep2) にヒト抗核抗体をプローブとして用いてからフルオロフォア標識二次試薬を用いて観察した。同一サンプルを ProLong® 褪色防止剤 (△)、製品 X (+) または褪色防止剤を含まない基剤 (○) で封入した。上述のデータは正規化後のものですが、ProLong® 封入剤で封入したサンプルでは、消光はほとんどまたはまったく認められない。

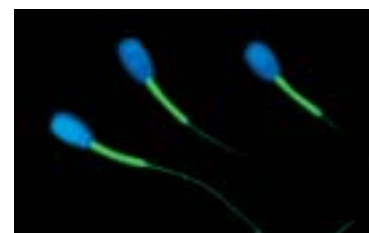
核酸染色

細胞透過性核酸染色

インビトロジェンのSYTO[®]核酸染色試薬は、ほとんどの種類の細胞に容易に浸透し、蛍光色も各種揃っています。ただしSYTO[®]色素は、生細胞の核だけを染色しません。真核細胞をSYTO[®]色素で染色すると、細胞質染色と核染色の両方が認められる傾向があります。核染色が必要な場合には、DNA選択性に優れるHoechst色素をお選びください。

Abs*	Em*	製品名	カタログNo.
350	461	Hoechst 33342	H-1399, H-3570, H-21492
352	461	Hoechst 33258	H-1398, H-3569, H-21491
488	509	SYTO [®] 13	S-7575
488	518	SYTO [®] 16	S-7578
566	582	SYTO [®] 85	S-11366
622	645	SYTO [®] 59	S-11341
652	676	SYTO [®] 62	S-11344

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)

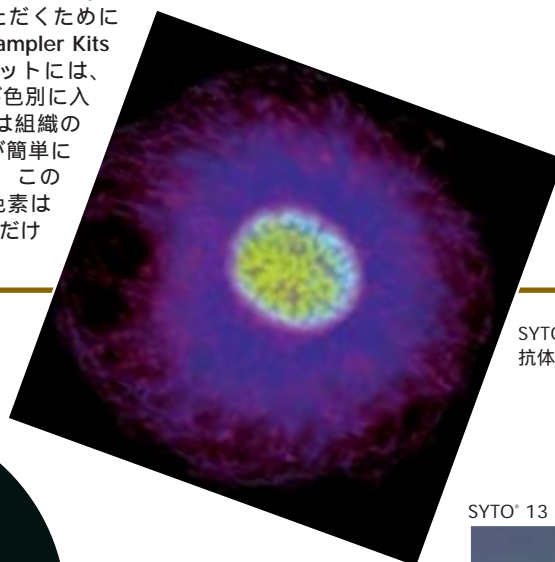


Hoechst 33342およびMitoTracker[®] Green FM^{*}

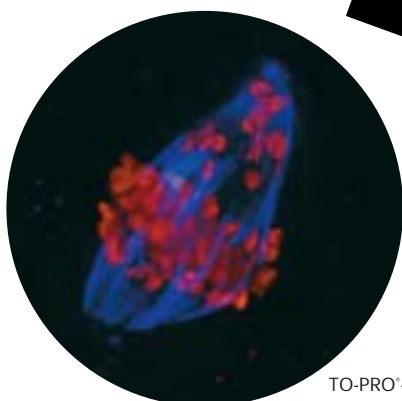
SYTO[®] サンプラーキット

SYTO[®]色素の限られたカラーグループ内でも、色素間では構造に差があります。こうした違いにより、色素の最大励起や最大発光に、またRNAやDNAとの相対的親和性にも差が生じることがあります。このような違いにより、アポトーシスマーカー¹からRNA顆粒染色²に至るまで、SYTO[®]色素では多くのアプリケーションが発見されています。有効なSYTO[®]色素をお選びいただくためにSYTO[®] Nucleic Acid Stain Sampler Kitsをご利用ください。このキットには、当社のSYTO[®]色素サンプルが色別に入っており、特定の細胞または組織の種類にどれが最適であるかが簡単にわかるようになっています。このキットに入っているSYTO[®]色素はいずれも単品でもご利用いただけます。

製品名	カタログNo.
SYTO [®] Blue Sampler Kit (SYTO [®] dyes 40 - 45)	S-11350
SYTO [®] Green Sampler Kit #1 (SYTO [®] dyes 11 - 16)	S-7572
SYTO [®] Green Sampler Kit #2 (SYTO [®] dyes 20 - 25)	S-7554
SYTO [®] Orange Sampler Kit (SYTO [®] dyes 80 - 85)	S-11360
SYTO [®] Red Sampler Kit (SYTO [®] dyes 17, 59 - 64)	S-11340



SYTO[®] 16, MitoTracker[®] 赤および抗チューリン抗体 (Alexa Fluor[®] 350 標識2次抗体で検出)



TO-PRO[®]-3およびMarina Blue[®] ストレプトアビジン



SYTO[®] 13

核酸の対比染色試薬

核酸染色試薬は、マルチカラー染色法にとって特に貴重な対比染色試薬です。適切な対比染色試薬ならばイメージにコントラストをもたらし、細胞内の各構造間の空間的關係を決定する上で役に立ちます。下表に示す対比染色試薬のほとんどは細胞に対する透過性がなく、そのために、一般的にはすでに透過処理した固定後のサンプルに使用できます。細胞透過性のない拡散染色試薬は、細胞膜が損なわれた細胞にのみ急速に浸透するため、死亡細胞の指示物質としてもお使いいただけます。

当社には、核酸を可視化する必要のある免疫組織化学研究やその他の応用に、多様な種類の対比染色試薬をそろえております。対比染色試薬には次の種類があります。

- 標準的対比染色試薬：この色素は、核および染色体の染色に用いることができます。DAPIはRNAよりもDNAの方に親和性が高いため、核染色は極めて鮮明であり、細胞質バックグラウンドはほとんど、あるいはまったくありません。

- TOTO[®]およびTO-PRO[®]色素：TOTO[®]およびTO-PRO[®]色素はいずれもシアニン色素のチアゾールオレンジ誘導体³です。TOTO[®]色素は二量体であり、核酸に極めて高い親和性があります。この色素は、対比染色、電気泳動、および単分子イメージングなどの各種のアプリケーションに適しています。TO-PRO[®]色素はTOTO[®]色素のモノマー体です。TO-PRO[®]色素は核酸に対する親和性は二量体のTOTO[®]より低いですが、TOTO[®]色素と同様、多くのアプリケーションにお使いいただけます。

- SYTOX[®]色素：SYTOX[®]核酸染色試薬はSYTO[®]色素に化学的に類似性がありますが、細胞透過性はありません。この色素は、マルチカラーを用いる方法や、または細胞生存性試験で死亡細胞の指示物質として用いることもできます。SYTOX[®] Green色素は、現時点では最高の緑色蛍光対比染色試薬です。

Abs*	Em*	製品名	カタログNo.	用途
スタンダード核酸染色				
358	461	DAPI	D-1306 D-21490	・対比染色 ¹ ・細胞透過性
535	617	propidium iodide	P-1304 P-3566 P-21493	・対比染色 ¹ ・細胞生存率研究 ^{2,3}
TOTO [®] および TO-PRO [®] 色素				
491	509	YOYO [®] -1 iodide	Y-3601	・対比染色 ⁴ ・電気泳動 ⁵ ・単分子イメージング ^{6,7}
491	509	YO-PRO [®] -1 iodide	Y-3603	・対比染色 ⁵ ・電気泳動 ⁵ ・アポトーシス細胞検出 ⁹
514	533	TOTO [®] -1 iodide	T-3600	・対比染色 ⁴ ・電気泳動 ⁵
534	570	POPO [®] -3 iodide	P-3584	・マイクロアレイ対比染色 ¹⁰ ・単分子イメージング ¹¹
642	661	TO-PRO [®] -3 iodide	T-3605	・対比染色 ¹² ・特に、共焦点顕微鏡用
SYTOX [®] 色素				
448	470	SYTOX [®] Blue	S-11348	・対比染色 ・細胞生存率研究 ・緑色蛍光からの分離にはあまりよくない
504	523	SYTOX [®] Green	S-7020	・対比染色 ¹² ・細胞生存率研究 ¹³ ・フルオレスセイン用のフィルターセットによく対応
547	570	SYTOX [®] Orange	S-11368	・対比染色 ・単分子イメージング ¹⁴ ・ローダミン用のフィルターセットによく対応

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光波長 (Em) (単位はnm)。1. *Methods Cell Biol* 30, 417 (1989); 2. *J Histochem Cytochem* 46, 895 (1998); 3. *J Microbiol Methods* 31, 1 (1997); 4. *Cytometry* 17, 191 (1994); 5. *J Chromatogr B* 732, 365 (1999); 6. *Cytometry* 36, 200 (1999); 7. *Anal Biochem* 249, 44 (1997); 8. *J Histochem Cytochem* 48, 781 (2000); 9. *J Immunol Methods* 185, 249 (1995); 10. <http://cottongenomecenter.ucdavis.edu/protocols/popo3.htm>; 11. *Anal Chem* 72, 4640 (2000); 12. *Acta Histochem Cytochem* 31, 297 (1998); 13. *Biotechnol Intl* 1, 291 (1997); 14. *Anal Biochem* 286, 138 (2000).



細胞骨格用プローブ

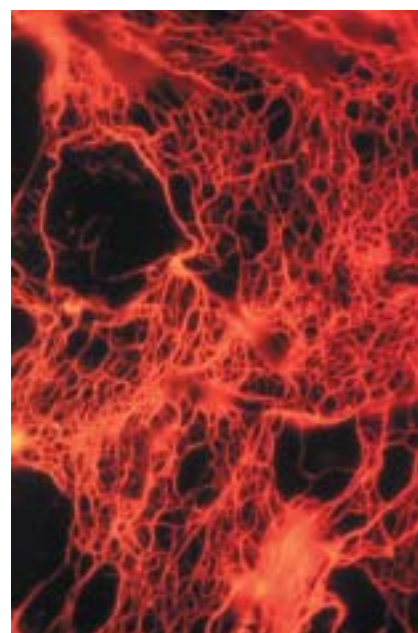
F-アクチン染色用ファロイジンコンジュゲート

当社は、細胞骨格標識用に環状ペプチドであるファロイジンの蛍光誘導体を各種ご用意しています。ファロイジン誘導体はF-アクチンをナノモル濃度で選択的に染色し、また水に溶解しやすいため、組織切片や細胞の固定標本中のアクチン同定用の使いやすい標識物質となります。当社はAlexa Fluor® シリーズの色素製品のすぐれた特性を利用して、10種類のAlexa Fluor® ファロイジンコンジュゲートを開発しました。これらは、スペクトルの類似したその他のファロトキシンコンジュゲートに比べて、鮮明さと光安定性に優れています。

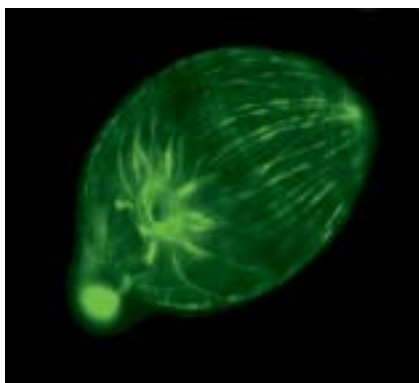
Abs*	Em*	色素	カタログNo.
Alexa Fluor® ファロイジンコンジュゲート			
346	442	Alexa Fluor® 350	A-22281
495	519	Alexa Fluor® 488	A-12379
532	554	Alexa Fluor® 532	A-22282
556	573	Alexa Fluor® 546	A-22283
578	603	Alexa Fluor® 568	A-12380
590	617	Alexa Fluor® 594	A-12381
632	647	Alexa Fluor® 633	A-22284
650	668	Alexa Fluor® 647	A-22287
663	690	Alexa Fluor® 660	A-22285
679	702	Alexa Fluor® 680	A-22286
他のファロイジンコンジュゲート			
N/A	N/A	Biotin-XX	B-7474
496	516	Fluorescein	F-432
496	520	Oregon Green® 488	O-7466
555	580	Rhodamine	R-415
600	615	Texas Red®-X	T-7471

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)。

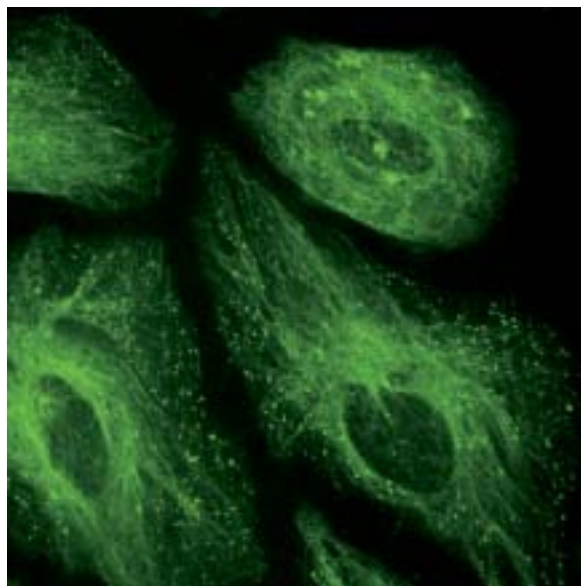
多量体テトラメチルローダミン標識化したチューブリン



Alexa Fluor® 488 ファロイジン



Oregon Green® 488 パクリタキセル



-チュープリンの免疫学的局在決定用抗体

インビトロジェンの抗ウシ α -チュープリンモノクローナル抗体は、二次免疫試薬と組み合わせて使用すれば、ショウジョウバエ⁵、ゼブラフィッシュ⁶およびヒト腫瘍細胞⁷の固定細胞において、また固定が凍結にかかわらず組織切片中で、微小管を可視化することができます。このマウスモノクローナル抗体は、未標識 (A-11126) またはビオチン-XXコンジュゲート (A-21371) をお選びいただけます。

生細胞の細胞骨格研究用プローブ

当社の蛍光標識チュープリン^{8,9}モノマーやアクチン^{10,11}モノマーをご利用になれば、溶液中でも生細胞内でもマイクロフィラメントや微小管の動態を可視化できます。これらはあらかじめ検査済みで、そのままマイクロインジェクションができます。

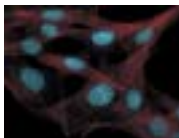
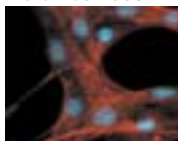
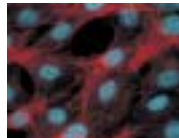
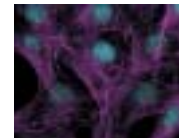
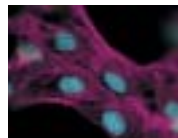
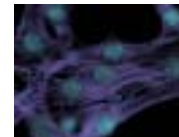
抗癌剤であるパクリタキセルは、生細胞内でチュープリンフィラメントを標識する細胞透過性プローブです。Oregon Green[®] 488パクリタキセルコンジュゲートは、他の蛍光パクリタキセル誘導体とは異なり、天然パクリタキセルの7-水酸基の誘導体化により調製されていますが、これはこのプローブが生細胞内の微小管に選択的に結合できるよう調製されています¹²。

Abs*	Em*	色素	カタログNo.
アクチン (ウサギ筋由来) コンジュゲート			
495	519	Alexa Fluor [®] 488	A-12373
578	603	Alexa Fluor [®] 568	A-12374
N/A	N/A	Unlabeled	A-12375
チュープリン (ウシ脳由来) コンジュゲート			
511	530	Oregon Green [®] 514	T-12391
555	580	Tetramethylrhodamine	T-7460
N/A	N/A	Unlabeled	T-7451
パクリタキセル製品			
496	520	Oregon Green [®] 488	P-22310
N/A	N/A	Unlabeled	P-3456

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)

細胞骨格操作作用試薬

Jasplakinolide (J-7473) は、カイメン *Jaspis johnstoni* から単離された大型環状ペプチドですが、*in vitro* においては強力なアクチン多量体化誘導剤¹³であり、アクチン結合に関してファロイジンと競合¹⁴します。ファロイジンやvirotoxinsなどの現在わかっている他のアクチン安定化剤とは異なり、jasplakinolideにはある程度細胞透過性があるため、生細胞内でのアクチン多量体化操作に便利です。Latrunculin A (L-12370) は紅海のカイメンから単離された毒素であり、培養細胞ではG-アクチンに結合してこのアクチンモノマーを遮蔽することにより、マイクロフィラメントの構成を攪乱します¹⁵。

Alexa Fluor[®] 546Alexa Fluor[®] 568Alexa Fluor[®] 594Alexa Fluor[®] 647Alexa Fluor[®] 660Alexa Fluor[®] 633Alexa Fluor[®] 680

Alexa Fluor[®] ファロイジン+DAPI 核酸染色

ミトコンドリアマーカー

生細胞ミトコンドリア用プローブ

インビトロジェンの広範囲に及ぶ細胞透過性ミトコンドリア用蛍光色素製品には、当社が特許を保有するMitoTracker[®]およびMitoFluor[™]色素などがあります。MitoTracker[®]色素にはチオール反応性の残基が含まれており、このために固定後も色素が充分保持されるようになっています。MitoFluor[™]色素は、生細胞内で光に安定で鮮明なミトコンドリアマーカーです。これらの色素のいずれも、その取り込みはミトコンドリアの膜電位によってある程度左右されます。ただしMitoFluor[™] GreenおよびMitoTracker[®] Green FM[®]色素は、ミトコンドリア膜全体で膜電位の差がない状態でも、鮮明で選択性に優れた染色になります。

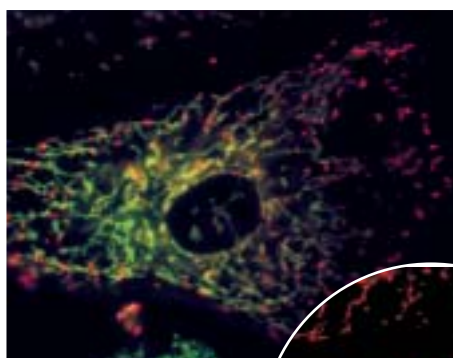
Abs*	Em*	製品名	カタログNo	用途
484	519	DiOC ₆ (3)	D-273	ミトコンドリア ¹ と小胞体 ² の両方で標識に使える
489	517	MitoFluor [™] Green	M-7502	生細胞と固定細胞の両方でミトコンドリアを染色 ³
490	516	MitoTracker [®] Green FM	M-7514	生細胞と固定細胞の両方でミトコンドリアを染色 ³
507	529	Rhodamine [®] 123	R-302	アポトーシスの間、膜の脱分極の検出に有用 ⁴
551	576	MitoTracker [®] Orange	M-7510	生細胞でミトコンドリアを染色 ⁵ 。固定し透過性にした後、中程度に保持される
578	599	MitoTracker [®] Red	M-7512	生細胞でミトコンドリアを染色。固定し透過性にした後、よく保持される ⁶
598	630	MitoFluor [™] Red 594	M-22422	594 nmのHe-Neレーザーに最適化されている
680	710	MitoFluor [™] Far Red 680	M-22423	ある環境下で650と690にピークをもつ二峰性の励起 ⁷

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)。 1. *Methods Cell Biol* 29, 125 (1989); 2. *J Cell Biol* 88, 526 (1981); 3. *Cell Biology: A Laboratory Handbook*, 2nd Ed., Vol. 2, *J.E. Cells*, Ed., pp. 513-517 (1998); 4. *Cytometry* 35, 181 (1999); 5. *Biophys J* 79, 1833 (2000); 6. *J Histochem Cytochem* 44, 1363 (1996); 7. *Anal Biochem* 279, 142 (2000).

ミトコンドリアの膜電位に関するレシオメトリック色素

JC-1 (T-3168) と JC-9 (D-22421) はカチオン性カルボシアニン色素で、低濃度では緑色蛍光モノマーとして存在します。これらの色素は膜電位により移動してミトコンドリアに蓄積されると、幅広い励起スペクトルと極めて狭い蛍光スペクトルを呈する赤色蛍光の「J-会合体」を形成します。その結果、これらのプローブによる評価可能な蛍光発光は、ミトコンドリア膜電位の高感度な測定方法として、特にアポトーシス研究用にお使いいただけます¹⁶⁻¹⁸。

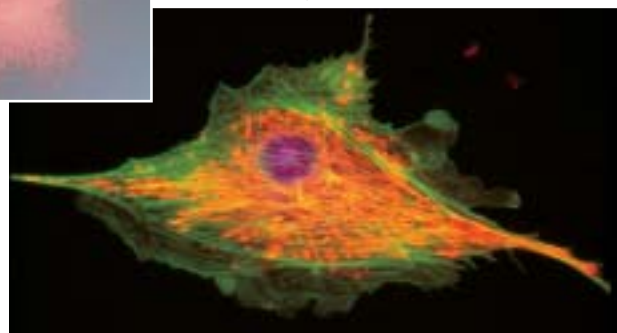
JC-9



MitoTracker[®] Red



MitoTracker[®] Red, BODIPY[®] FL ファロイジンおよびDAPI



MitoFluor[™] Red 594およびHoechst 33342

小胞体およびゴルジ体用プローブ

細胞透過性の小胞体およびゴルジ体用プローブ

小胞体（ER）およびゴルジ体は、細胞内で新たに合成された脂質やタンパク質の選別に重要な役割を果たしています。生細胞ではこれらの構造物は、各種の親油性（疎水性）プローブで染色してからその形態にもとづいて識別できます。ゴルジ体を選択的に染色するには、普遍的にゴルジ体に親和性の高い当社の蛍光セラミドアナログ製品からお選びいただけます。

Abs*	Em*	製品名	カタログNo	特長
小胞体プローブ				
374	~460	ER-Tracker™ Blue-White DPX	E-12353	非常にER感受性 ¹ 。励起は高度に環境感受性 UV longpass フィルターを推奨
484	519	DiOC ₆ (3)	D-273	ミトコンドリアから色素がなくなった後でER染色が起こる ²
ゴルジ体プローブ				
466	536	NBD C ₆ -ceramide	N-1154 N-22651†	生細胞と固定細胞の両方でゴルジ選択的 ^{3,4}
503	510	BODIPY® FL C ₅ -ceramide	D-3521 B-22650†	NBD-ceramide に対する、より明るい代替。トランスゴルジでエキサイマー形成が起こる結果、蛍光がレッドシフトする ⁵
598	617	BODIPY® TR ceramide	D-7540	生細胞と固定細胞の両方でマルチカラーの応用に利用できる ^{6,7}

*おおよその最大吸収波長（Abs）および最大蛍光波長（Em）（単位はnm）。†上記の製品ではセラミドは脱脂BSAとの複合体となっています。脱脂したBSAは、プローブの溶解に有機溶媒を使用する必要もなく細胞の標識化を促進します。 1. *Mol Biol Cell* 11, 1815 (2000); 2. *Microsc Res Tech* 27, 198 (1994); 3. *J Biol Chem* 268, 18390 (1993); 4. *Science* 228, 745 (1985); 5. *J Cell Biol* 113, 1267 (1991); 6. *Mol Biol Cell* 11, 1421 (2000); 7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 10217 (1996).

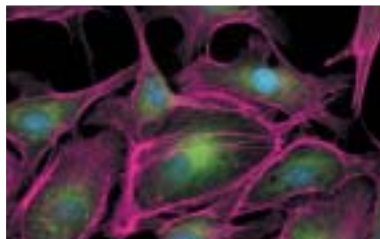
ゴルジ体の免疫検出用プローブ

ゴルジ複合体の免疫組織化学および免疫蛍光検出用として、当社はマウスモノクローナル抗体である抗-ヒトgolgin-97（A-21270）と *Griffonia simplicifolia* から得られたレクチンGS-IIの2種類のプローブをお奨めします。Golgin-97はgraninファミリーのタンパク質で、ゴルジ複合体の細胞質表面に局在しているintegral膜タンパク質です^{19,20}。GS-II レクチンは非還元性の - または -結合N-アセチル-D-グルコサミン基を認識し²¹、ゴルジ複合体に高度な選択的マーカーです²²。このレクチンは、最も鮮明なコンジュゲートである緑色蛍光のAlexa Fluor® 488色素（L-21415）または赤色蛍光のAlexa Fluor® 594色素（L-21416）からお選びください。

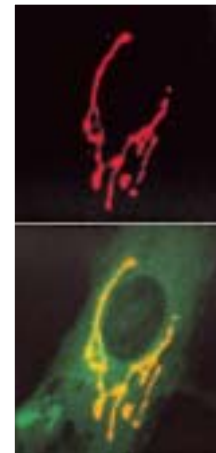
ER-Tracker™ Blue-White DPX



DiOC₆(3), Alexa Fluor® 633 ファロイジン およびDAPI



BODIPY® FL C₅-ceramide



酸性オルガネラおよびエンドサイトーシス用プローブ

ライソソーム用プローブ

当社のLysoTracker® プローブは、細胞膜を自由に通過し、一般に酸性オルガネラ内に濃縮されます。LysoTracker® プローブには各種の蛍光色素が揃っており、マルチカラーを用いる方法に特に適しています。さらに、LysoTracker® Red DND-99で染色される酸性の細胞成分の大部分は、多くの場合アルデヒドによる固定後にも染色パターンを維持しています。LysoTracker® プローブは、脱神経骨格筋中の酸性オルガネラの可視化²³、ウシ低温保存精子頭部先端部の状態評価²⁴および*Trypanosoma brucei*によるサイトカインの一種であるα-TNFの特異的取り込み後のライソソーム損傷検査²⁵など、各種用途に使用されています。

Abs*	Em*	製品名	カタログNo.
373	422	LysoTracker® Blue DND-22	L-7525
466	536	LysoTracker® Yellow HCK-123	L-12491
495	519	LysoTracker® Green DND-26	L-7526
590	617	LysoTracker® Red DND-99	L-7528

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)

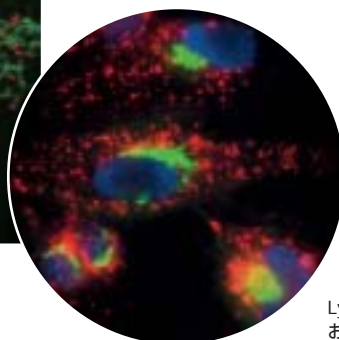
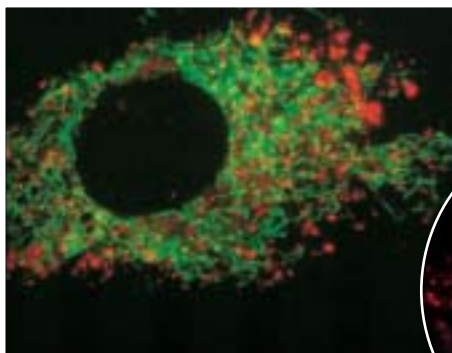
ファゴサイトーシスのモニタリング用蛍光バクテリアおよび酵母菌

蛍光バクテリアおよび酵母菌粒子は、抗炎症薬²⁶の作用やマクロファージにおけるチロシンキナーゼSrcファミリーの役割²⁷など、食作用に影響する各種パラメータの研究用として証明された研究法です。インビトロジェンのBioParticles® 製品は、熱または化学的に滅菌した蛍光標識バクテリアおよび酵母菌シリーズで、各種の蛍光色素が揃っています。当社がお奨めする*Escherichia coli* (K-12株)、*Staphylococcus aureus* (プロテインAのないWood株) および*Saccharomyces cerevisiae* (ザイモサン) のBioParticles® 製品は、2種類の優れたAlexa Fluor® 色素を含め、各種フルオロフォアが共有結合で標識されています。

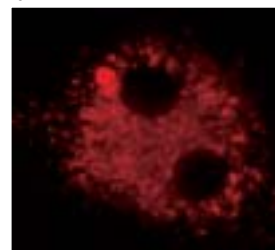
標識	Abs*	Em*	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Fluorescein	494	518	E-2861	S-2851	Z-2841
Alexa Fluor® 488	495	519	E-13231	S-23371	Z-23373
BODIPY® FL	505	513	E-2864	S-2854	Z-2844
Tetramethylrhodamine	555	580	E-2862		
Alexa Fluor® 594	590	617	E-23370	S-23372	Z-23374
Texas Red®	595	615	E-2863		Z-2843

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)

LysoTracker® Red and MitoTracker® Green



LysoTracker® Red



LysoTracker® Red, BODIPY® FL Cs-ceramide
およびHoechst 33342

エンドサイトーシス追跡用蛍光デキストラン

当社の蛍光デキストランコンジュゲートの分子量は3,000~2,000,000ダルトンにまで及んでいます。その多くは、エンドサイトーシスによる外因性物質の取り込みおよび細胞内プロセスのモニタリングにお使いいただけます^{28,29}。当社の蛍光デキストランは、エンドソームの融合³⁰および小胞の形態研究³¹にも有用です。下記のリストは当社のデキストランコンジュゲートのほんの一部を示しています。当社の*Handbook of Fluorescent Probes and Research Products* (蛍光プローブと研究用製品ハンドブック)をご覧ください。製品リストを記載しております。

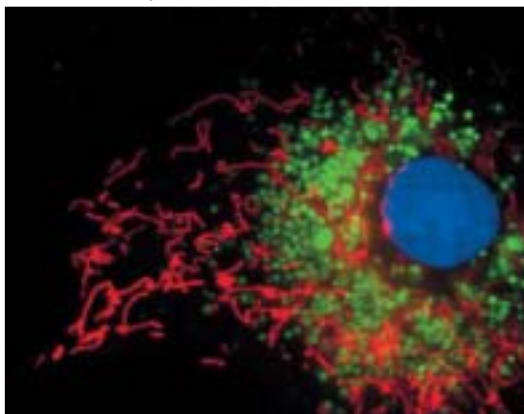
標識	Abs*	Em*	3000 MW	10,000 MW	70,000 MW
Cascade Blue	407	430	D-7132	D-1976	
Fluorescein	494	518	D-3306	D-1820	D-1822
Alexa Fluor® 488	495	519		D-22910	
Tetramethylrhodamine	555	580	D-3308	D-1817	D-1818
Alexa Fluor® 546	556	573		D-22911	
Alexa Fluor® 568	578	603		D-22912	
Alexa Fluor® 594	590	617		D-22913	
Texas Red®	595	615	D-3328	D-1863	D-1864

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)

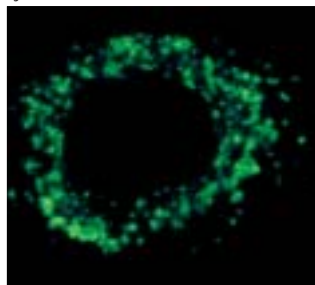
エンドサイトーシス追跡用膜プローブ

インビトロジェンの膜プローブ製品FM® 1-43 (T-3163)とFM® 4-64 (T-3166, T-13320)は、エンドサイトーシスのモニタリング³²に優れた試薬であり、また各種生物種の神経細胞内での活性依存性の小胞再利用のメカニズム研究には特に有用です^{33,34}。これらの水溶性色素は、水溶液中ではほとんど蛍光を発色しませんが、膜環境に挿入されると強い蛍光を生じます。神経伝達物質を積極的に放出している神経細胞では、これらの色素は再利用されたシナプス小胞内部に吸収され、神経末端が鮮やかに染色されます。エンドサイトーシスによって取り込まれるFM® 1-43の小胞あたりの量はエキソサイトーシスの際に放出される色素の量に等しく、再利用プロセス中は色素が吸収された小胞からエンドソーム様のコンパートメントには移動しないことを示唆しています。これらの色素の吸収スペクトルと蛍光スペクトルはいずれも、膜環境では青色側にシフトしています。FM® 1-43は吸収ピークと発光ピークが480/565 nm近辺にある³⁵のに対してFM® 4-64のピーク波長は515/640 nm付近³⁶にあります。

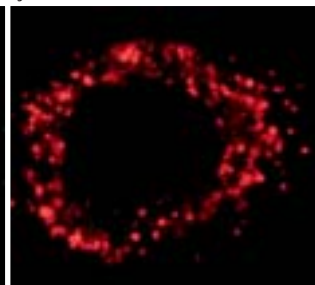
MitoFluor™ 680, LysoTracker® GreenおよびHoechst 33342



LysoTracker® Yellow HCK-123



LysoTracker® Red



長期の細胞追跡研究用プローブ

チオール反応性 CellTracker™ 色素

当社のCellTracker™色素は生細胞の細胞質膜を自由に透過します。これらはいったん細胞内に入ると、プローブのチオール反応性のクロロメチル基によって細胞内成分に結合し、トレーサーを細胞質内に捕捉します。CellTracker™色素を用いて細胞を標識すれば、添加後24時間以上安定です。ただし例外として、ATP-依存性のマルチドラッグトランスポーターを発現する細胞は、色素抱合グルタチオンを急速に排泄します³⁷。CellTracker™色素は比較的長時間細胞内に保持されるため、蛍光レベルを維持する必要のあるアプリケーションには理想的な色素です。

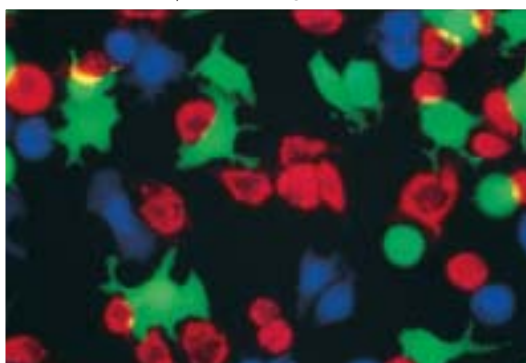
アミン-反応性細胞トレーサー

細胞内に受動的に拡散できるアミン反応性試薬は2,3種しかありません。こうした化合物は無色で蛍光もありませんが、その酢酸基が細胞内エステラーゼによって開裂すると蛍光の強いアミン反応性物質が生じます。細胞内タンパク質のアミン含有基と反応する際に、こうしたプローブは色素-タンパク質付加体を生成しますが、これらは細胞が移動し分裂しても十分に保持されます。Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFDA, SE - 文献ではCFSE と略されている場合もあります) はその中心的長期用トレーサーであり、シグナルは数週間にもわたって持続します³⁸。SNARF-1 carboxylic acid acetateのサクシニミジルエステルは、トレーサーを用いる研究で赤色蛍光物質としても利用できます。ただしSNARF-1のシグナルはカルボキシフルオレセインより強度が劣ります。

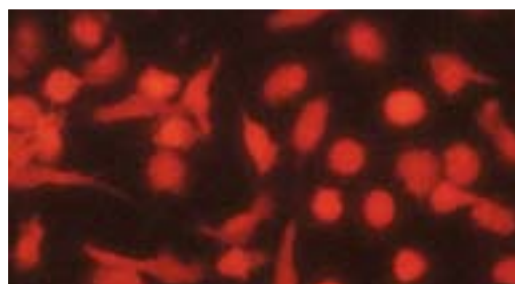
Abs*	Em*	製品名	カタログNo.	用途
Thiol-Reactive CellTracker™ Probes				
353	466	CellTracker™ Blue CMAC	C-2110	• 細胞追跡 ¹ • グルタチオン定量 ² • 薬剤により誘導される細胞毒性測定 ³
492	517	CellTracker™ Green CMFDA	C-2925 C-7025†	• 細胞追跡 ⁴ • グルタチオン定量 ² • 細胞接着研究 ⁵ • 細胞-細胞融合研究 ⁶
522	529	CellTracker™ Green BODIPY™	C-2102	• 細胞追跡 • 細胞内細菌の標識 ⁷
541	565	CellTracker™ Orange CMTMR	C-2927	• 細胞追跡 ⁴ • 細胞-細胞融合研究 ⁶ • 細胞内細菌の標識 ⁷
Amine-Reactive Tracers				
492	517	CFDA, SE	C-1157 V-12883‡	• 細胞追跡 ^{9,10} • 細胞増殖研究 ^{11,12} • 細菌生存率 ¹³
576	635	SNARF ⁻¹ acetate, SE	S-22801	• 細胞追跡

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)。†上記のカタログ番号は「特殊包装」の番号です。これは製品をバイアル数本ずつに小分けして湿気による分解の機会を低減するものです。‡この製品はキットの一部として包装されています。
1. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**, 537 (1995); 2. *Glia* **30**, 329 (2000); 3. *Clin Chem* **41**, 1906 (1995); 4. *J Biol Chem* **272**, 29380 (1997);
5. *J Cell Biol* **144**, 777 (1999); 6. *Anal Biochem* **216**, 271 (1994); 7. *J Microbiol Methods* **40**, 265 (2000); 8. *Stem Cells* **14**, 132 (1996);
9. *Immunol Cell Biol* **77**, 499 (1999); 10. *Cell Transplantation* **3**, 397 (1994); 11. *J Immunol* **162**, 735 (1999); 12. *J Exp Med* **184**, 277 (1996); 13. *J Appl Microbiol* **88**, 809 (2000).

CellTracker™ CMFDA, CMTMRおよびCMAC



SNARF⁻¹



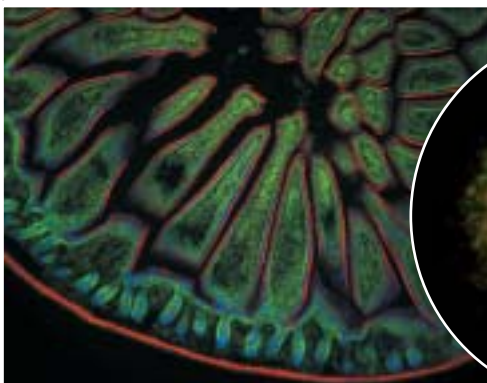
レクチンコンジュゲート

レクチンは、細胞糖タンパク質に認められる特異的配列の各種糖分子に結合します。このためにレクチンは、組織化学的なアプリケーションで応用のきく中心的な検出試薬です³⁹。レクチンは特殊なタイプの細胞や組織の同定、また疾患や傷害の状態の判定などルーチンとしてお使いいただけます。当社のAlexa Fluor® レクチンコンジュゲートの蛍光強度や安定性は、ほかのどのような色素コンジュゲートより優れています。

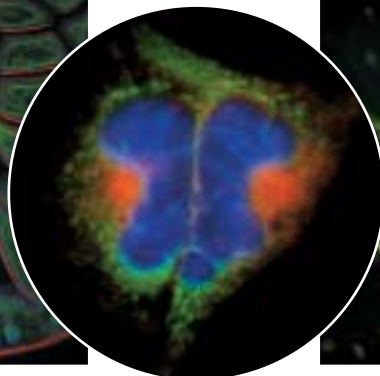
レクチン	Alexa Fluor® 350	Alexa Fluor® 488	Alexa Fluor® 594	Alexa Fluor® 633	Alexa Fluor® 660	用途
Wheat Germ Agglutinin (WGA)	W-11263	W-11261	W-11262	W-21404	W-21407	<ul style="list-style-type: none"> ・ゴルジ染色¹・細菌グラム染色² ・タンパク質発現³
Concanavalin A (Con A)	C-11254	C-11252 C-21401*	C-11253	C-21402	C-21403	<ul style="list-style-type: none"> ・小胞体染色¹ ・糖輸送研究⁴ ・グルコース バイオセンサー⁵
Isolectin IB4 (an African legume, <i>Griffonia simplicifolia</i>)		I-21411	I-21413			<ul style="list-style-type: none"> ・ミクログリア細胞マーカー⁶ ・内皮細胞マーカー⁷
GS-II (an African legume, <i>Griffonia simplicifolia</i>)			L-21415	L-21416		<ul style="list-style-type: none"> ・ゴルジ染色⁸ ・ある癌腫のマーカー^{9,10}
PHA-L (red kidney bean, <i>Phaseolus vulgaris</i>)			L-11270			<ul style="list-style-type: none"> ・順行性の追跡¹¹ ・ある癌腫のマーカー^{12,13}
HPA (edible snail, <i>Helix pomatia</i>)			L-11271			<ul style="list-style-type: none"> ・HSV-1とHSV-2の検出¹⁴ ・乳癌と大腸癌の細胞株のマーカー¹⁵
SBA (soybean, <i>Glycine max</i>)			L-11272			<ul style="list-style-type: none"> ・細胞内の膜¹⁷と細胞表面¹⁶での糖の発現
PNA (peanut, <i>Arachis hypogaea</i>)			L-21409			<ul style="list-style-type: none"> ・先体のマーカー¹⁸ ・ある黒色腫のマーカー¹⁹

* Succinylated. 1. *J Biol Chem* 274, 32975 (1999); 2. *Appl Environ Microbiol* 56, 2245 (1990); 3. *Clin Cancer Res* 3, 455 (1997); 4. *J Biol Chem* 275, 13580 (2000); 5. *Anal Chem* 71, 3126 (1999); 6. *Am J Pathol* 152, 1307 (1997); 7. *Histochem J* 19, 225 (1987); 8. *J Struct Biol* 128, 131 (1999); 9. *J Histochem Cytochem* 46, 793 (1998); 10. *Histochem J* 27, 139 (1995); 11. *Brain Res* 854, 122 (2000); 12. *Pathol Int* 46, 639 (1996); 13. *Cancer Lett* 107, 285 (1996); 14. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90, 2798 (1993); 15. *Histochem J* 29, 677 (1997); 16. *Histochem J* 29, 583 (1997); 17. *Histochemistry* 93, 319 (1990); 18. *Mol Reprod Devel* 55, 289 (2000); 19. *Human Pathol* 30, 556 (1999).

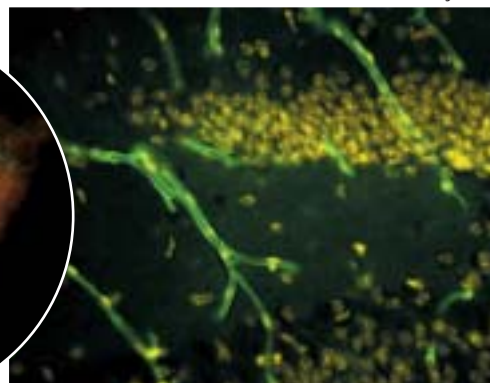
Alexa Fluor® 350 WGA, Alexa Fluor® 568 phalloidinおよびSYTOX® Green



Alexa Fluor® 488 Con A, Alexa Fluor® 594 WGAおよびHoechst 33342



Alexa Fluor® 488 GS-IB4 およびnuclear yellow



特殊研究用製品

蛍光ニッスル染色

ニッスル染色は、脳および脊髄神経細胞を可視化する標準的な組織学的方法です⁴⁰。ニッスル物質は、神経細胞形質および樹状突起中の粗面小胞体由来のリボソームRNAから構成されており、損傷を受けたか、または再生中の神経細胞体内に再分布されることから、神経細胞の生理学的状態を示すマーカーです。当社のNeuroTrace™ 蛍光Nissl染色は、神経細胞に特徴的なこのニッスル物質に選択的に結合し、トルイジンブルーやクレシルバイオレットなど他の組織学的ニッスル染色試薬よりもはるかに高感度です。

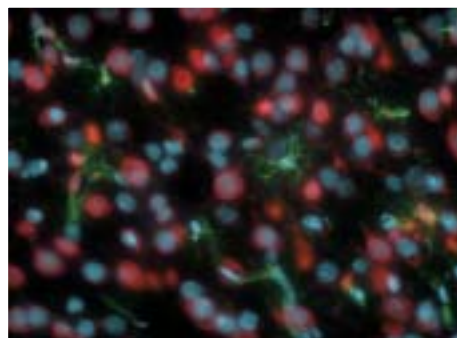
Abs*	Em*	製品名	カタログNo.
435	455	NeuroTrace™ 435/455 blue fluorescent Nissl stain	N-21479
500	525	NeuroTrace™ 500/525 green fluorescent Nissl stain	N-21480
515	535	NeuroTrace™ 515/535 yellow fluorescent Nissl stain	N-21481
530	615	NeuroTrace™ 530/615 red fluorescent Nissl stain	N-21482
640	660	NeuroTrace™ 640/660 deep-red fluorescent Nissl stain	N-21483

*およそその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)。

神経細胞に特異的な免疫組織化学的マーカー

抗ヒト神経細胞タンパク質HuC/HuDマウスモノクローナル抗体 (抗-Hu, A-21271) は、ヒト⁴¹、マウス⁴²、鳥類⁴¹、ゼブラフィッシュ⁴³、両生類⁴⁴ およびその他の組織での神経細胞に特異的な同定用にお使いいただけます。Hu 抗原はembryonic lethal abnormal visual (ELAV) ファミリーのRNA結合性タンパク質で、神経タンパク質 HuD⁴⁵、HuC 40⁴⁶や Hel-N1⁴⁷もこれに含まれます。この抗原は、神経細胞発生の極めて早期の段階から発現され始めます。当社はこの抗体のビオチンコンジュゲート (A-21272) も用意しております。

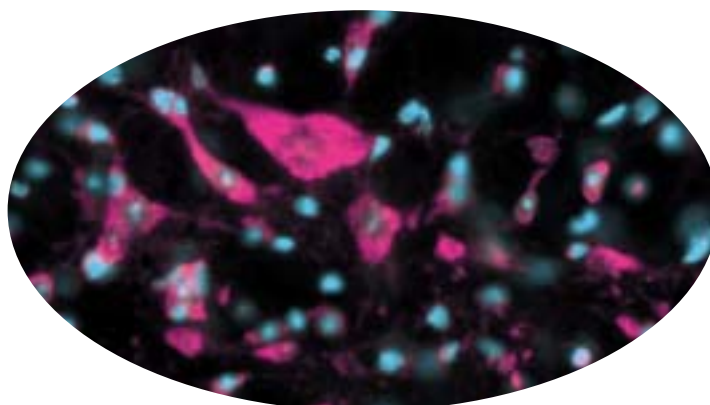
Alexa Fluor® 488 GS-IB4, NeuroTrace™ 530/615 red-fluorescent Nissl stainおよびDAPI



NeuroTrace™ 530/615 red-fluorescent Nissl stain およびDAPI



NeuroTrace™ 640/660 deep-red-fluorescent Nissl stainおよびDAPI



蛍光コンジュゲート

インビトロジェンでは、当社が保有している特許の一般的な色素を各種生物分子に結合させた、高品質蛍光バイオコンジュゲートを幅広く揃えております。応用例とともにいくつかを下表に示します。

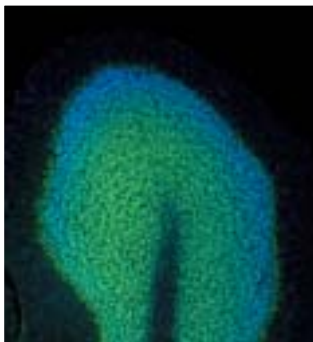
Abs*	Em*	コンジュゲート	カタログNo	用途
495	519	Cholera toxin subunit B, Alexa Fluor® 488	C-22841	• 脂質ラフトのマーカー ¹ • 逆行性の神経の追跡 ²
590	617	Cholera toxin subunit B, Alexa Fluor® 594	C-22842	
495	519	Histone H1 from calf thymus, Alexa Fluor® 488	H-13188	• 核移入アッセイ ³ • エンドサイトーシスのマーカー ⁴
495	519	α-Crystallin from bovine eye lens, Alexa Fluor® 488	C-23010	• 分子シャペロンの研究 ⁵ • 白内障での膜変化の検出 ⁶
495	519	Trypsin inhibitor from soybean, Alexa Fluor® 488	T-23011	• 先体反応した精子の検出 ⁷ • アクロシンの局在性 ⁸

*おおよその最大吸収波長 (Abs) および最大蛍光発光波長 (Em) (単位はnm)。1. *Mol Biol Cell* 11, 1645 (2000); 2. *Neuroscience* 82, 443 (1998); 3. *J Cell Biol* 123, 785 (1993); 4. *J Biol Chem* 257, 1695 (1982); 5. *Eye* 13, 403 (1999); 6. *J Biol Chem* 275, 6664 (2000); 7. *Fertil Steril* 62, 1044 (1994); 8. *Zygote* 8, 127 (2000).

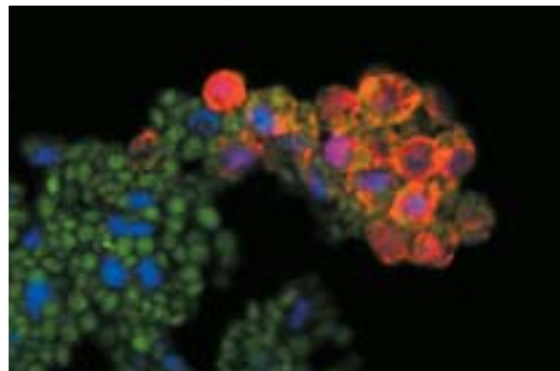
参考文献

1. *Cytometry* 21, 265 (1995); 2. *J Neurosci* 16, 7812 (1996); 3. US Patent No. 5,321,130; 4. *Methods Enzymol* 194, 729 (1991); 5. *Mol Biol Cell* 11, 241 (2000); 6. *J Cell Sci* 111, 3695 (1998); 7. *Mol Biol Cell* 10, 947 (1999); 8. *J Cell Biol* 146, 1033 (1999); 9. *J Cell Biol* 130, 639 (1995); 10. *Cell Struct Funct* 22, 59 (1997); 11. *Cell Biol* 102, 1074 (1986); 12. *J Biol Chem* 275, 26265 (2000); 13. *J Biol Chem* 275, 5163 (2000); 14. *J Biol Chem* 269, 14869 (1994); 15. *Cell Motil Cytoskeleton* 13, 127 (1989); 16. *J Neurosci* 18, 932 (1998); 17. *FEBS Lett* 411, 77 (1997); 18. *Neuron* 15, 961 (1995); 19. *Current Biol* 9, 381 (1999); 20. *Arthritis Rheum* 40, 1693 (1997); 21. *Arch Biochem Biophys* 177, 330 (1976); 22. *J Struct Biol* 128, 131 (1999); 23. *J Histochem Cytochem* 44, 267 (1996); 24. *Biol Reprod* 56, 991 (1997); 25. *J Cell Biol* 137, 715 (1997); 26. *J Immunol Methods* 112, 99 (1988); 27. *J Immunol* 165, 473 (2000); 28. *J Biol Chem* 269, 12918 (1994); 29. *Am J Physiol* 258, C309 (1990); 30. *Biophys J* 69, 716 (1995); 31. *J Biol Chem* 269, 19005 (1994); 32. *J Membrane Biol* 167, 85 (1999); 33. *J Biol Chem* 275, 15279 (2000); 34. *J Neurochem* 73, 2227 (1999); 35. *Neuron* 12, 1235 (1993); 36. *J Cell Biol* 128, 779 (1995); 37. *J Cell Sci* 111, 1137 (1998); 38. *J Immunol Methods* 133, 87 (1990); 39. *Science* 246, 227 (1989); 40. *Neuroscience Protocols*, F.G. Wouterlood, Ed., Elsevier (1993) pp. 93.050.12.01–93.050.12.07; 41. *J Neurobiol* 25, 143 (1994); 42. Unpublished observation, Walter Metcalfe, Molecular Probes, Inc.; 43. *Devel Genet* 18, 11 (1996); 44. Personal communication, J. Gross and L. Barlow, University of Denver; 45. *Cell* 67, 325 (1991); 46. *Neurology* 45, 544 (1995); 47. *Mol Cell Biol* 13, 3494 (1993).

NeuroTrace™ 500/525 green-fluorescent Nissl stainおよびDAPI



Anti-Hu (detected with Alexa Fluor® 546 dye-labeled secondary), Alexa Fluor® 488 phalloidinおよびHoechst 33342



インビトロジェンのAlexa Fluor 色素は当社特許物であり、U.S. Patent No. 5,696,157、U.S. Patent No. 6,130,101、または追加申請中の米国あるいは海外の特許申請の対象となっています。研究用のみ認められています。Alexa Fluor、BioParticles、BODIPY、Cascade Blue、FM、LysoTracker、Marina Blue、MitoTracker、Oregon Green、ProLong、SlowFade、SNARF、SYTO、SYTOX、Texas Red、TO-PRO、TOTO、YO-PROおよびYOYOはInvitrogen Corp.の登録商標です。CellTracker、ER-Tracker、MitoFluor、NeuroTraceおよびPOPOはInvitrogen Corp.の登録商標です。



Tech-Line™

製品内容についての学術的なご質問はテクニカルサービス (Tel: 03-3663-8240 / Fax: 03-3663-8242) までお問い合わせ下さい。



このパンフレット専用番号は



2003-98-CB

<http://www.invitrogen.co.jp/>

インビトロジェン株式会社

本 社 〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町2-35-4 日本橋浜町パークビル
カスタマーサービス TEL(03)3663-7974 FAX(03)3663-7975
営業部 (CB) TEL(03)3663-8082 FAX(03)3663-8246
大阪営業所 TEL(06)6339-8165 FAX(06)6339-8138
配送センター 〒166-0013 東京都杉並区堀の内1-8-26 (株)トーシン内
TEL(03)3318-8521 FAX(03)3318-8523

販売店