

はじめに

近年、硫化水素 (H₂S) が血管拡張や細胞保護、インスリン分泌や神経伝達調節など様々な生理活性を示すことが明らかにされ、一酸化窒素 (NO) や一酸化炭素 (CO) に続く重要なシグナル分子として注目されています。硫化水素は、NO や CO と同様にガス状分子として認知されていますが、その pKa は約 7 であり生理的 pH では約 80% が硫化水素イオン (HS⁻) の状態で存在します。また、硫化水素イオンは、生体内で様々な結合形態や構造をとるため、その作用機序の詳細に関しては未だ不明であり、硫化水素を中心とした硫黄の生体内機能の解明が待ち望まれています。
-SulfoBiotics- HSip-1 は、硫化水素と反応し強い蛍光 (λ_{ex} 491 nm, λ_{em} 516 nm) を生じます。

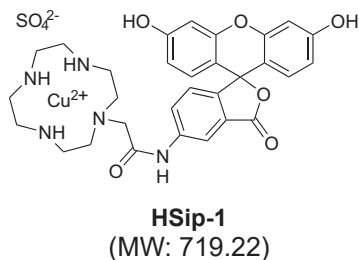
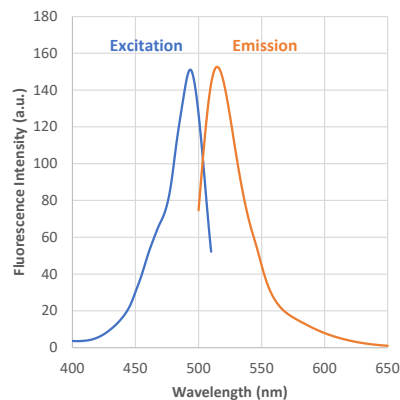


図 1 HSip-1 の構造



λ_{ex} : 491 nm
λ_{em} : 516 nm

<推奨フィルター>
励起 : 470 ~ 500 nm
蛍光 : 500 ~ 550 nm

図 2 硫化水素と反応後の HSip-1 の励起・蛍光スペクトル

内容 1 mg x 1

保存条件 冷暗所にて保存してください。

必要なもの
- 超純水
- PBS
- マイクロピペット

溶液調製 **10 mmol/l HSip-1 stock solution の調製**
HSip-1 1 mg を含むチューブに超純水 139 μl を添加し、ピペティングにより溶解する。
※溶解後は、-20 °C 以下で保存してください。調製後は 1 ヶ月間安定です。

実験例 HSip-1 を用いた硫化水素の検出

- 1) 調製した 10 mmol/l HSip-1 stock solution を PBS で希釈し、200 μmol/l HSip-1 working solution を調製した。
- 2) 硫化ナトリウム (-SulfoBiotics- Sodium Sulfide (Na₂S)) を 7.8 mg 秤量し、超純水 (窒素バブリング処理済) 1 ml を添加して溶解し、100 mmol/l Na₂S 水溶液を調製した。
- 3) 100 mmol/l Na₂S 水溶液 20 μl に、超純水 980 μl を添加して 2 mmol/l Na₂S を調製した。
- 4) 3) で調製した溶液 100 μl に、超純水 900 μl を添加して 200 μmol/l Na₂S 溶液を調製した。
- 5) 4) で調製した溶液を順次 2 倍希釈し、Na₂S 標準液 (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.3, 3.2, 0 μmol/l) を調製した。
- 6) 調製した Na₂S 標準液 300 μl に、200 μmol/l HSip-1 working solution 350 μl を添加し、ボルテックスにより混合した (全量 650 μl)。
- 7) 30 分間室温でインキュベートした後、96 穴マイクロプレートに各溶液を 200 μl ずつ添加した。
- 8) マイクロプレートリーダーで、516 nm の蛍光強度 (Ex: 491 nm) を測定した。

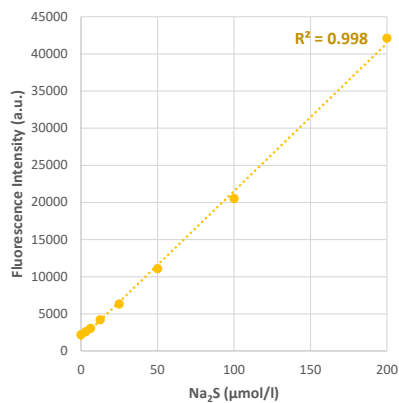


図3 硫化水素濃度に依存した 516 nm の蛍光強度変化

※ HeLa細胞を用いた実験例を小社HPにて紹介しております。
小社HPにアクセス後、SB21で検索ください。

本製品は、東京大学大学院 薬学系研究科 長野哲雄先生、花岡健二郎先生のご指導の下、製品化しました。

参考文献

- 1) K. Sasakura, K. Hanaoka, N. Shibuya, Y. Mikami, Y. Kimura, T. Komatsu, T. Ueno, T. Terai, H. Kimura, and T. Nagano, "Development of a Highly Selective Fluorescence Probe for Hydrogen Sulfide", *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 18003.

ご質問・ご要望は下記までお問い合わせください。

<開発元>

Dojindo Molecular Technologies, Inc.
30W Gude Dr, Suite 260, Rockville, Maryland, 20850 U.S.A.
Tel: +1-301-987-2667, Fax: +1-301-987-2687
URL: www.dojindo.com

<委託製造元>

株式会社 同仁化学研究所
熊本県上益城郡益城町田原 2025-5 〒 861-2202
Tel:096-286-1515 Fax:096-286-1525 URL:www.dojindo.co.jp/
ドージン・イースト(東京) Tel:03-3578-9651 Fax:03-3578-9650