

はじめに

Liperfluo は、Spy-LHP の類似化合物で、過酸化脂質検出用の試薬であり、過酸化脂質で特異的に酸化されエタノール等の有機溶媒中で強い蛍光を発します (図 1,2)。Liperfluo 酸化体の励起波長および蛍光波長はそれぞれ 524 nm、535 nm で、測定試料への光によるダメージや試料由来の自家蛍光の影響を軽減できます。本試薬は、ジイソキノリン環の片方にテトラエチレングリコール基が導入されたもので、Spy-LHP よりも水系バッファー中での分散性が向上しています。Liperfluo 酸化体は水中ではほとんど蛍光を発しませんが、細胞膜等の脂溶性の高い部位では蛍光性となることから、容易に蛍光顕微鏡による生細胞の過酸化脂質のイメージングやフローサイトメトリーによる細胞の過酸化脂質量の分析に使用することができます。

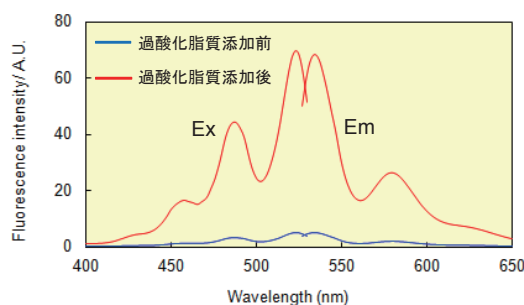
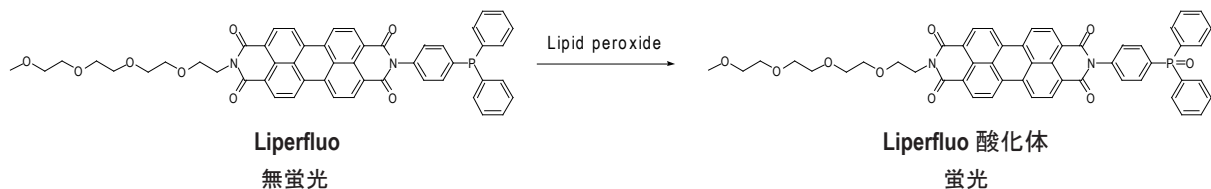


図 1 過酸化脂質による Liperfluo の励起および蛍光スペクトル変化 (エタノール溶媒中)

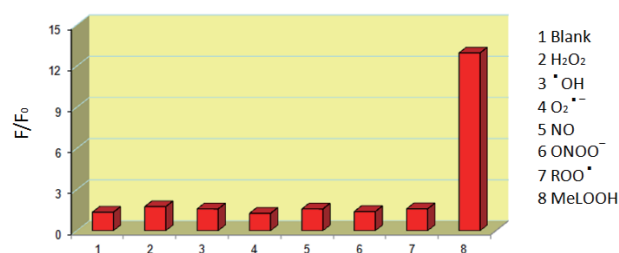


図 2 Liperfluo の活性酸素種に対する反応選択性

内容
保存方法
使用例

Liperfluo 50 µg × 5 本

遮光、冷蔵 (0 ~ 5°C) にて保存してください。ご購入後、未開封の状態 で 6 カ月間安定です。

細胞中の過酸化脂質検出

1. Liperfluo 50 µg を含むチューブに DMSO 60 µl を添加し、ピペッティング等を使用して溶解する (濃度 : 1 mmol/l)。

※ピペッティングだけでは溶解しにくいのでボルテックス、超音波、または加温にて溶解してください。

※ Liperfluo (DMSO) 溶液調製後は、アルミホイル等で遮光し、その日のうちにご使用ください。

2. 操作 1 で調製した Liperfluo (DMSO) 溶液を細胞懸濁液に添加する。

例 : 細胞懸濁液 (細胞数 1.0×10^5 cells/ml) 1 ml に対して適当量の Liperfluo (DMSO) 溶液を添加する。

添加量	Liperfluo 濃度
10 µl	10 µmol/l
5 µl	5 µmol/l
1 µl	1 µmol/l

※培地中ではバックグラウンド蛍光が高くなる傾向にありますので、Liperfluo を添加する前に PBS 等に置換することをお勧めします。

※細胞懸濁液中の DMSO 濃度が 1% 以下になるように Liperfluo 溶液を添加してください。

3. 37°C で 30 分間インキュベートする。

4. 蛍光顕微鏡あるいはフローサイトメトリー等で観察、分析する。

※ Liperfluo 酸化体は水中ではほとんど蛍光を発しませんが、バックグラウンド蛍光が高い場合は、必要に応じて PBS 等で洗浄を行ってください。

本使用例には一般的な使用方法を記載しております。目的に応じて最適条件をご検討ください。