

LysoPrime Green

- High Specificity and pH Resistance

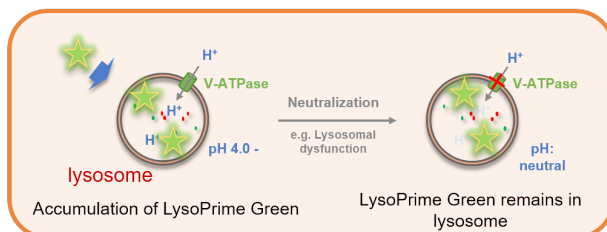
Technical Manual

はじめに

リソソームは細胞内小器官の一つで生体膜に囲まれた酸性小胞であり、様々な分解酵素を内包しております。リソソームは不要な物質を分解することで生体内恒常性の維持に寄与しています。リソソームの機能不全は神経変性疾患等の発症・進展に深く関与していることから、リソソームを詳細に解析することが病態の解明や治療薬の開発に有用であると考えられております。

リソソームの生細胞解析では低分子蛍光色素を用いたライブイメージングが汎用されてきましたが特異性や pH 変化による染色能の低下が課題として挙げられてきました。本製品はよりリソソーム特異性が高く pH 変化に抵抗性の低分子蛍光色素であり、より正確なリソソームの生細胞解析を可能とします。また、滞留性が高いため長期間のイメージングが必要な実験系にも適応可能です。

LysoPrime Green



Conventional Dye

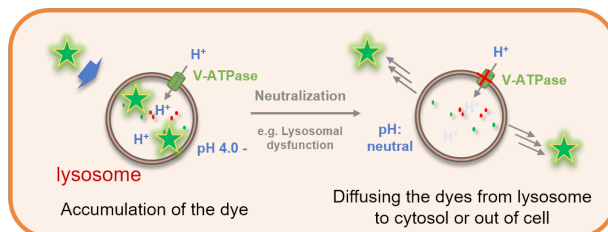
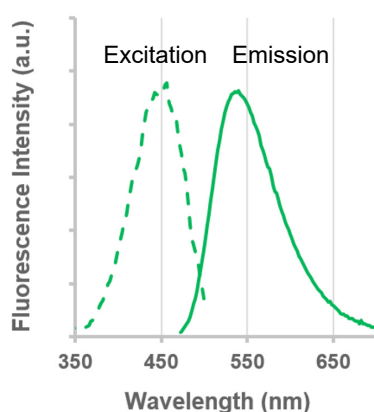


図 1. LysoPrime Green と従来の蛍光色素との違いについて

蛍光特性 LysoPrime Green の蛍光特性



λ_{ex} : 456 nm

λ_{em} : 540 nm

< 観察条件 >

Ex : 400 – 490 nm, Em : 500 – 600 nm

内容 LysoPrime Green

10 μ l x 1 (35 mm dish 10 枚分)

10 μ l x 3 (35 mm dish 30 枚分)

保存条件 -80 °C にて保存してください。

※短期間の保存温度の違い（室温、4°C、-20°C、-80°C）による染色能への影響は小社 web サイトの製品ページ（品コード：L261）の FAQ に掲載しております。

必要なもの

- 培地
- Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) または無血清培地
- マイクロピペット
- マイクロチューブ

溶液調製

LysoPrime Green working solution の調製

LysoPrime Green 溶液を培地で 2000 倍希釈し、LysoPrime Green working solution を調製する。

※ 細胞種によって最適濃度が異なります。はじめてご使用される際には最適条件をご検討ください。（推奨希釈域：1000 - 4000 倍）

※ 本色素は血清成分の影響を受けるため、血清不含培地または HBSS で希釈してください。

※ Working solution は保存できません。調製したその日のうちに、ご使用ください。

操作

1. 細胞をディッシュに播種し、5% CO₂ 存在下、37 °C で培養する。
2. 培地を取り除き、HBSS もしくは無血清培地を用いて 1 回洗浄する。
3. LysoPrime Green working solution を加え、5% CO₂ 存在下、37 °C で 30 分インキュベートする。
4. 上澄みを取り除き、HBSS もしくは無血清培地を用いて 2 回洗浄する。
5. 培地を加え、蛍光顕微鏡で観察する。

共焦点蛍光顕微鏡を用いたリソソーム中 pH 変化の観察

1. μ -slide 8 well plate (ibidi 社) に HeLa 細胞 (1.0×10^4 cells/well) を播種し、5%CO₂ 存在下、37℃で一晩培養した。
2. HBSS で 1 回洗浄後、100 nmol/l LysoTracker Red (LTR: pH 依存性リソソーム染色色素) を含んだ LysoPrime Green working solution (2000 倍希釈) を well に 200 μ l 加え、37℃で 30 分インキュベートした。
3. 上澄みを取り除き、PBS で 2 回洗浄した。
4. HBSS で調製した 100 nmol/l Bafilomycin (リソソーム酸性化阻害剤) を well に 200 μ l 加え、37℃で 30 分インキュベートした。
5. 上澄みを取り除き、PBS で 2 回洗浄した。
6. 新しい 10% FBS 含有 MEM 培地を well に 200 μ l 加え、共焦点蛍光顕微鏡で観察した。

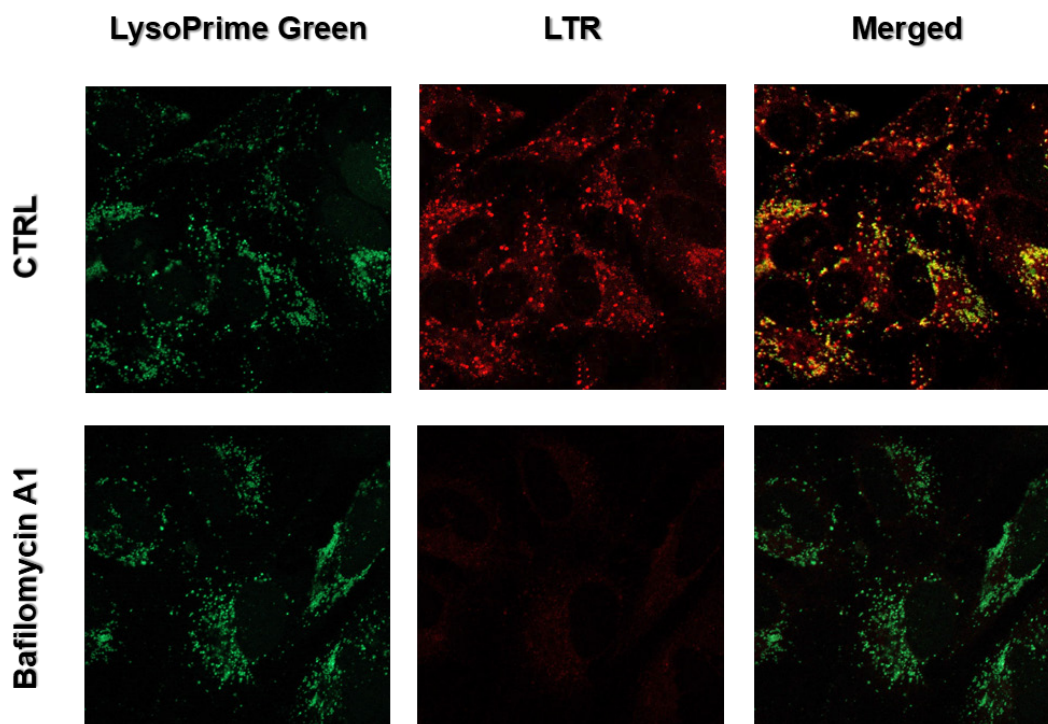


図 2. Bafilomycin A1 によるリソソーム pH への影響

CTRL: 通常培養条件、Bafilomycin A1: リソソーム酸性化阻害条件

LysoPrime Green 検出波長: 488 nm (Ex), 500 – 570 nm (Em)

LysoTracker Red (LTR) 検出波長: 548 nm (Ex), 550 – 650 nm (Em)

本製品は試験・研究用途です。臨床診断用途には使用できません。

ご質問・ご要望は下記までお問い合わせください。

DOJINDO 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
 熊本テクノリサーチパーク 〒861-2202
 Tel: 096-286-1515 (代表) Fax: 096-286-1525
 E-mail: info@dojindo.co.jp URL: www.dojindo.co.jp

ドージン・イースト (東京)
 東京都港区芝大門 2-1-17 朝川ビル 7F 〒105-0012
 Tel: 03-3578-9651 (代表) Fax: 03-3578-9650
 フリーダイヤル: 0120-489548
 フリーファックス: 0120-021557

L261: LysoPrime Green
 - High Specificity and pH Resistance