

5 細胞染色用色素

細胞染色用色素は、対象別に細胞二重染色キット、生細胞染色用色素、死細胞染色色素、核染色色素、ミトコンドリア染色色素、組織染色色素の6項目に分類した。

細胞二重染色キットは生細胞染色色素である Calcein-AM と死細胞染色色素 PI をセットとして、生細胞と死細胞を同時に染めて見ることが出来るキットである。生細胞染色用色素は生きた細胞に取り込まれて細胞内で蛍光色素として確認できるものである。死細胞染色用色素は生細胞では細胞膜を透過しないが、細胞が死滅することで細胞内に透過する性質がある色素である。ミトコンドリア染色用色素は細胞内に取り込まれた後、ミトコンドリアに集積する性質の色素である。組織染色用色素は観察用に組織を染色する色素で、FSB,BSB のように特定の構造を持ったタンパク質に集積して細胞を染色する性質のものもある。

5-1 細胞二重染色キット

-Cellstain®- Double Staining Kit 103

5-2 生細胞染色用色素

BCECF-AM special packaging 104
 -Cellstain®- Calcein-AM 105
 -Cellstain®- Calcein-AM solution 105
 -Cellstain®- CFSE 106
 -Cellstain®- CytoRed solution 107
 -Cellstain®- FDA 107

5-3 死細胞染色用色素

-Cellstain®- DAPI 108
 -Cellstain®- DAPI solution 108
 -Cellstain®- EB 109
 -Cellstain®- EB solution 109
 -Cellstain®- PI 110
 -Cellstain®- PI solution 110
 -Cellstain®- Trypan Blue 111

5-4 核染色用色素

-Cellstain®- AO 112
 -Cellstain®- AO solution 112
 -Cellstain®- Hoechst 33258 solution 113
 -Cellstain®- Hoechst 33342 solution 113

5-5 ミトコンドリア染色用色素

MitoBright Green 114
 MitoBright Red 114
 MitoBright Deep Red 114
 -Cellstain®- MitoRed 115
 -Cellstain®- Rh123 115

5-6 組織染色用色素

FSB solution 116
 BSB solution 117
 DAB 118
 TMBZ 119
 TMBZ-HCl 119

表 色素の特性

色素名	検出	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	備考
BCECF-AM	蛍光	490	526	細胞内で加水分解して蛍光を発する。pH に左右される。
Calcein-AM	//	490	515	細胞内で加水分解して Calcein となって蛍光を発する。
CFSE	//	496	516	細胞内タンパク質に結合し、比較的長く細胞内に留まる。
CytoRed	//	535	590	細胞内で加水分解して Resorufin となって蛍光を発する。
FDA	//	488	530	細胞内で加水分解して Fluorescein となって蛍光を発する。
DAPI	//	360	460	死細胞の核酸と結合して蛍光を発する。
EB	//	520 ~ 525	615	死細胞の核酸と結合して蛍光を発する。
PI	//	530	620	死細胞の核酸と結合して蛍光を発する。
Trypan Blue	染色	-	-	死細胞のみを青色に染色する。
AO	蛍光	420 ~ 460 500	630 ~ 650 (ssDNA) 520 (dsDNA)	DNA の二本鎖と一本鎖で蛍光特性が異なる。
Hoechst 33258	//	350	461	生死細胞の核酸と結合して蛍光を発する。
Hoechst 33342	//	352	461	生死細胞の核酸と結合して蛍光を発する。
MitoRed	//	560	580	ミトコンドリアに色素が集積する。
Rh123	//	507	529	ミトコンドリアに色素が集積する。
MitoBright Green	//	493	508	ミトコンドリアに色素が集積する。
MitoBright Red	//	547	563	ミトコンドリアに色素が集積する。
MitoBright Deep Red	//	643	663	ミトコンドリアに色素が集積する。
FSB	//	390	511	アミロイドタンパク質に集積する。
BSB	//	432	532	アミロイドタンパク質に集積する。
DAB	染色	-	465 (λ_{max})	ペルオキシダーゼ、過酸化水素により褐色色素を生成する。
TMBZ	//	-	655 (λ_{max})	ペルオキシダーゼ、過酸化水素により青緑色色素を生成する。

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。
 社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

5-1 細胞二重染色キット

-Cellstain® - Double Staining Kit

同仁品コード：CS01
1 set ¥37,100 341-07381

Protocol: 「生細胞・死細胞を染め分けたい」

キット内容

- ・ A 液：Calcein-AM Stock Solution (1 mmol/l)
Calcein-AM in DMSO 50 µl × 4 vials
- ・ B 液：PI Stock Solution (1.5 mmol/l)
PI in H₂O 300 µl × 1 vial

取扱注意 1. 危険物第四類第三石油類 危等Ⅲ
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷凍，遮光

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
感嘆符



性質 -Cellstain® Double Staining Kit (セルステイン 細胞二重染色キット) は、生細胞染色用蛍光色素 Calcein-AM と、死細胞染色用蛍光色素 PI (Propidium Iodide) を組み合わせただのもので、生細胞及び死細胞を同時に染色することができます。

Calcein-AM は、蛍光色素 Calcein の四つのカルボキシル基をアセトキシメチル (AM) 化して脂溶性を高め細胞膜透過性としたものである。それ自体蛍光を示さないが、生細胞の細胞膜を浸透して細胞内に入ると、細胞内各種エステルにより加水分解され黄緑色の強い蛍光を示すようになる。一方、PI は核酸染色色素の一つで、死細胞内に入り込み、細胞内の DNA の二重らせん構造に intercalate することにより特有の強い赤色蛍光を示す。

この作用の異なる二つの色素を用いることにより、生細胞は黄緑色に、死細胞は赤色に染め分けることができる。蛍光顕微鏡下の細胞観察はもちろん、フローサイトメトリー、あるいはプレートリーダーを用いた細胞数の計測への応用が可能である。

このような蛍光色素を利用した細胞染色は、Trypan blue を用いた分染法に代わる高感度な方法として期待される。

染色条件は、細胞の種類、濃度などの観察条件によって変わるので注意する。条件に応じて、細胞の固定や、試薬濃度の調整など最適条件を検討する必要がある。

染色溶液の調製

A 液及び B 液を室温に戻す。
5 ml の PBS(-) 溶液に A 液 10 µl、B 液 15 µl を入れる。これを染色溶液とする。このとき、Calcein-AM は 2 µmol/l、PI は 4 µmol/l の濃度となる。

蛍光特性

Calcein-AM: $\lambda_{ex}=490\text{ nm}$, $\lambda_{em}=515\text{ nm}$
PI: $\lambda_{ex}=530\text{ nm}$, $\lambda_{em}=580\text{ nm}$

色素の最適濃度

使用する Calcein-AM 及び PI の最適濃度は、細胞の種類に大きく依存しているため、使用する細胞毎に最適色素濃度を求める必要がある。以下のようにして、それぞれの細胞毎の最適濃度を求めることを薦める。

1) 目的とする細胞について、0.1% サポニン、あるいは 0.1 ~ 0.5% のジギトニンで 10 分間処理するか、70% エタノールで 30 分間処理することにより死滅させる。0.1 ~ 10 µmol/l の PI 溶液にて染色し、細胞質を染めることなく核のみを赤色に染色する濃度域を探し出す。

2) 同様の死細胞を使用し、0.1 ~ 10 µmol/l の Calcein-AM 溶液にて染色し、死細胞の細胞質を染色しない濃度域を探し出す。更にその濃度域で生細胞が十分染色することを、生細胞を使用して確認する。もし、染色が十分でなければ、濃度を高くして検討する。

注意事項

- 1) -Cellstain® Double Staining Kit は、-20℃以下で冷凍して保存してください。
- 2) 本キットには溶液の入ったマイクロチューブのコンポーネントが含まれています。チューブ内壁やキャップに溶液が付着していることがありますので、開封前に振り落としてご使用ください。
- 3) Calcein-AM は湿気により加水分解する恐れがあるので、使用後はキャップをしっかりと閉じ、水分の吸収に注意してください。
- 4) 調製した染色溶液はその日のうちに使用してください。Calcein-AM が徐々に加水分解するため、バックグラウンドが上昇し観察しにくいことがあります。PI 溶液は冷凍保存すれば 1 年以上安定です。
- 5) PI は発癌性の疑いがあるので下記の点を参考にして取り扱いには十分注意してください。
 1. 取り扱い時には手袋・保護眼鏡・マスク等を着用し、接触および吸引しないよう注意してください。
 2. 万一、皮膚に接触した場合は、直ちに大量の水で洗い流してください。
 3. 処理方法
使用した器具の洗浄液などの廃液は、各機関独自の取り扱いガイドラインに従い処理してください。

*使用方法は、プロトコルをご覧ください。

最新の情報は web へ [同仁化学 CS01](#) で検索

参考文献

- 1) L. S. D. Clerck, C. H. Bridts, A. M. Mertens, M. M. Moens and W. J. Stevens, "Use of Fluorescent Dyes in the Determination of Adherence of Human Leucocytes to Endothelial Cells and the Effects of Fluorochromes on Cellular Function", *J. Immunol. Methods*, 1994, 172, 115.
- 2) E. S. Kaneshiro, M. A. Wyder, Y.-P. Wu and M. T. Cushion, "Reliability of Calcein Acetoxy Methyl Ester and Ethidium Homodimer or Propidium Iodide for Viability Assessment of Microbes", *J. Microbiol. Methods*, 1993, 17 (1), 1.
- 3) N. G. Papadopoulos, G. V. Z. Dedoussis, G. Spanakos, A. D. Gritzapis, C. N. Baxevanis and M. Papamichail, "An Improved Fluorescence Assay for the Determination of Lymphocyte-Mediated Cytotoxicity Using Flow Cytometry", *J. Immunol. Methods*, 1994, 177, 101.

5-2 生細胞染色用色素

BCECF-AM special packaging

3'-O-Acetyl-2',7'-bis(carboxyethyl)-5 or 6-carboxyfluorescein,
diacetoxymethyl ester
〔CAS No. 117464-70-7〕

同仁品コード：B221
50 µg × 8 ￥16,700 349-08161

Protocol：「細胞を染色したい」

規格

- (1) 性状：白色～微黄色固体
(2) 純度 (HPLC)：90.0% 以上
(3) 蛍光スペクトル：試験適合
(4) NMR スペクトル：試験適合

取扱注意

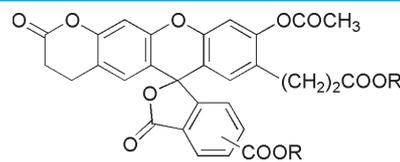
1. 危険物第四類第三石油類 危等III
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷凍，遮光

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)

感嘆符



構造式



R=CH₂OCOCH₃

C₃₅H₂₈O₁₅=688.59

性質 BCECF の pK_a は 6.97 で、pH と蛍光強度との間には pH6.4～7.6 の範囲内で直線関係がみられ、細胞内 pH 測定に適している。BCECF は励起光 (500 nm) 照射によって分解されない。BCECF は、イオン化しているために細胞膜を透過できないが、BCECF-AM は、疎水性が増大し容易に細胞膜を透過する。細胞内に入った BCECF-AM は

エステラーゼにより加水分解を受け、膜不透透性の BCECF に戻る。中性 pH 付近における BCECF-AM の蛍光 (励起光波長 500 nm) は微弱であるが、BCECF は強い蛍光を示すので、加水分解の過程を蛍光強度 (蛍光波長 530 nm) の変化としてモニターできる。本品には溶解用 DMSO (1 ml) が添付されている。

参考文献

- 1) R. A. Steinhardt and D. Mazia, "Development of K⁺-conductance and Membrane Potentials in Unfertilized Sea Urchin Eggs After Exposure to NH₄OH", *Nature*, 1973, 241, 400.
- 2) T. J. Rink, R. Y. Tsien and T. Pozzan, "Cytoplasmic pH and Free Mg²⁺ in Lymphocytes", *J. Cell Biol.*, 1982, 95, 189.
- 3) A. M. Paradiso, R. Y. Tsien and T. E. Machen, "Na⁺-H⁺ Exchange in Gastric Glands as Measured with a Cytoplasmic-trapped, Fluorescent pH Indicator", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, 81, 7436.
- 4) S. Grinstein, B. Elder and W. Furuya, "Phorbol Ester-induces Changes of Cytoplasmic pH in Neutrophils: Role of Exocytosis in Na⁺-H⁺ Exchange", *Am. J. Physiol.*, 1985, 248, C379.
- 5) G. B. Zavoico, E. J. Cragoe and M. B. Feinsein, "Regulation of Intracellular pH in Human Platelets", *J. Biol. Chem.*, 1986, 261(28), 13160.
- 6) G. R. Bright, W. Fisher, J. Rogowska and L. Taylor, "Fluorescence Ratio Imaging Microscopy: Temporal and Spatial Measurements of Cytoplasmic pH", *J. Cell Biol.*, 1987, 104, 1019.
- 7) C. Aalkjaer and E. J. Gragoe Jr, "Intracellular pH Regulation in Resting and Contracting Segments of Rat Mesenteric Resistance Vessels", *J. Physiol.*, 1988, 402, 391.
- 8) K. Tsujimoto, M. Semadeni, M. Huflejt and L. Packer, "Intracellular pH of Halobacteria Can Be Determined by the Fluorescent Dye 2',7'-bis(carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, 155, 123.
- 9) M. A. Kolber, R. R. Quinones, R. E. Gress and P. A. Henkart, "Measurement of Cytotoxicity by Target Cell Release and Retention of the Fluorescent Dye Bis-carboxyethyl-carboxyfluorescein (BCECF)", *J. Immunol. Methods*, 1988, 108, 255.
- 10) H. Harada, Y. Kanai, M. Anzai and Y. Suketa, "cAMP Activates Cl⁻/HCO₃⁻ Exchange for Regulation of Intracellular pH in Renal Epithelial Cells", *Biochim. Biophys. Acta*, 1991, 1092, 404.
- 11) C. C. Freudenrich, E. Murphy, L. A. Levy, R. E. London and M. Lieberman, "Intracellular pH Modulates Cytosolic Free Magnesium in Cultured Chicken Heart Cells", *Am. J. Physiol.*, 1992, 262(4), C1024.
- 12) K. Khodakhah and D. Ogden, "Functional Heterogeneity of Calcium Release by Inositol Triphosphate in Single Purkinje Neurons, Cultured Cerebellar Astrocytes, and Peripheral Tissues", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 4976.
- 13) G. Boyarsky, C. Hanssen and L. A. Clyne, "Superiority of *in vitro* Over *in vivo* Calibrations of BCECF in Vascular Smooth Muscle Cells", *FASEB J.*, 1996, 10, 1205.
- 14) S. A. Weston and C. R. Parish, "New Fluorescent Dyes for Lymphocyte Migration Studies Analysis by Flow Cytometry and Fluorescent Microscopy", *J. Immunol. Methods*, 1990, 133, 87.
- 15) L. S. D. Clerck, C. H. Bridts, A. M. Mertens, M. M. Moens and W. J. Stevens, "Use of Fluorescent Dyes in the Determination of Adherence of Human Leucocytes to Endothelial Cells and the Effects of Fluorochromes on Cellular Function", *J. Immunol. Methods*, 1994, 172, 115.

最新の情報は web へ 同仁化学 B221 で検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

-Cellstain® - Calcein-AM

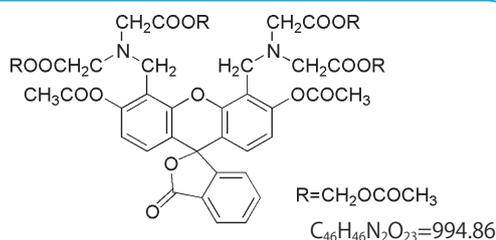
3',6'-Di(O-acetyl)-4',5'-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]fluorescein, tetraacetoxymethyl ester
[CAS No. 148504-34-1]

Protocol: 「細胞を染色したい」

同仁品コード: C326
1 mg ¥13,400 349-07201

- 規格** (1) 性状: 無色～微黄色固体
(2) ジメチルスルホキシド溶液: 試験適合
(3) NMR スペクトル: 試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法: 冷凍, 遮光

構造式

**-Cellstain® - Calcein-AM solution**

3',6'-Di(O-acetyl)-4',5'-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]fluorescein, tetraacetoxymethyl ester, DMSO solution
[CAS No. 148504-34-1(Calcein-AM)]

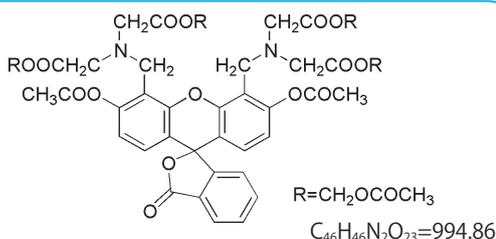
Protocol: 「細胞を染色したい」

1 mg/ml DMSO 溶液

同仁品コード: C396
1 ml ¥16,300 341-07901

- 規格** (1) 性状: 無色液体
(2) 含量: 試験適合
- 取扱注意** 1. 危険物第四類第三石油類 危等III,
2. 火気厳禁 3. 保存方法: 冷凍, 遮光

構造式



危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
感嘆符



性質 Calcein-AM は Calcein の 4 つのカルボキシル基をアセトキシメチルエステル化 (AM 化) することにより細胞膜透過性としたものである。Calcein-AM 自体は蛍光をほとんど示さないが、細胞内のエステラーゼによる加水分解で Calcein となる。この Calcein は、膜不透過性の化合物で、強い黄緑色の蛍光を示す ($\lambda_{ex}=490$ nm、 $\lambda_{em}=515$ nm)。Calcein-AM と同じ生細胞染色用色素として同様に fluorescein 骨格を持つ Carboxy fluorescein diacetate (CFDA) や Fluorescein diacetate (FDA) などが知られている。しかし、これらの化合物は発色後細胞膜から漏出しやすく、それが使用上の問題のひとつとなっていた。これらのような色素に比べ、Calcein-AM は発色後の細胞からの漏出が少ない色素として利用が高まってきている。また、リンパ球の増殖や白血球のケモタキシスなどの細胞機能を阻害しないことが知られている。また、Calcein-AM はキラー T 細胞や NK 細胞などによる細胞障害活性の測定において、汎用されてきた放射性同位体を用いる ⁵¹Cr release 法と同様の結果を与えてることから、細胞毒性も少ないことが示唆される。

Calcein-AM は生細胞を染色し、蛍光顕微鏡下の観察やフローサイトメトリーなどに利用されているが、死細胞染

色色素と共に用いることで生細胞二重蛍光染色に利用される場合も数多い。Papadopoulos らは、Calcein-AM と Ethidium homodimer (EthD-1) を使用して二重染色を行い、2 つの色素の蛍光波長の違いを利用しフローサイトメトリーで細胞毒性について検討を行っている。

Calcein-AM は細胞毒性が少なく、また蛍光を発した後の細胞からの漏出が少ないことから、生細胞染色用色素として現在最も有用な色素である。先に示したように、放射性同位元素を使用した計測法も現在行われているが、安全性、簡便性の点からも蛍光性化合物を利用した細胞研究の解析が進んでくるものと期待される。

蛍光特性: $\lambda_{ex}=490$ nm, $\lambda_{em}=515$ nm

【注意】

本品は、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。
稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

- 1) K. McGinnes, G. Chapman, R. Marks and R. Penny, "A Fluorescence NK Assay Using Flow Cytometry", *J. Immunol. Methods*, 1986, 86, 7.
- 2) S. J. Morris, "Real-time Multi-wavelength Fluorescence Imaging of Living Cells", *BioTechniques*, 1990, 8(3), 296.
- 3) S. A. Weston and C. R. Parish, "New Fluorescent Dyes for Lymphocyte Migration Studies Analysis by Flow Cytometry and Fluorescent Microscopy", *J. Immunol. Methods*, 1990, 133, 87.
- 4) D. M. Callewaert, G. Radcliff, R. Waite, J. Lefevre and D. Poulik, "Characterization of Effector-Target Conjugates for Cloned Human Natural Killer and Human Lymphokine Activated Killer Cells by Flow Cytometry", *Cytometry*, 1991, 12, 666.
- 5) Han-Qing Xie, R. Huang and V. W. Hu, "Intercellular Communication Through Gap Junctions Is Reduced in Senescent Cell", *Biophys. J.*, 1992, 62, 45.
- 6) S. A. Weston and C. R. Parish, "Calcein: a Novel Marker for Lymphocytes Which Enter Lymph Nodes", *Cytometry*, 1992, 13, 739.

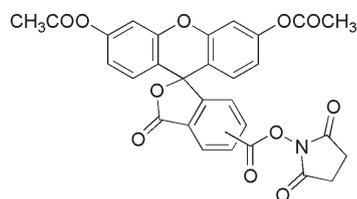
最新の情報は web へ 同仁化学 C326/C396 で検索

-Cellstain® - CFSE5- or 6-(N-Succinimidylloxycarbonyl)fluorescein 3',6'-diacetate
〔CAS No. 150347-59-4〕同仁品コード：C375
1 mg ¥5,200 341-07401

Protocol: 「細胞を染色したい」

- 規格** (1) 性状：白色～微黄色固体
(2) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍

構造式

C₂₉H₁₉NO₁₁=557.46

性質 CFSE は蛍光色素として細胞内に長時間とどまり、長期的な動的挙動を観察するトレーサーとしても利用できる、生細胞蛍光染色色素である。CFSE は Fluorescein に細胞内蛋白質と反応するよう活性エステル基を付けている。また、フェノール性水酸基をアセチル化しているため、それ自体蛍光を示さないことから、バックグラウンドを低く抑えることができる。また、脂溶性が高いため、細胞膜の脂質二分子膜層を容易に透過することができる。細胞内に取り込まれた CFSE は細胞内のエステラーゼによりアセチル基が加水分解され本来の Fluorescein が持つ蛍光を示すようになり、かつ活性エステル部が細胞内蛋白質のアミノ基と結合し

細胞内に固定化できることにより細胞外への漏出が少ない。細胞の成長、分裂融合などの動的挙動が蛍光顕微鏡を用いることによって観測することもできる。
蛍光特性：λ_{ex}=496 nm, λ_{em}=516 nm

【注意】

本品は、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。
稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

- 1) M. Bronner-Fraser, "Alterations in Neural Crest Migration by a Monoclonal Antibody That Affects Cell Adhesion", *J. Cell Biol.*, 1985, 101, 610.
- 2) A. Nose and M. Takeichi, "A Novel Cadherin Cell Adhesion Molecule: Its Expression Patterns Associated With Implantation and Organogenesis of Mouse Embryos", *J. Cell Biol.*, 1986, 103, 2649.
- 3) S. A. Weston and C. R. Parish, "New Fluorescent Dyes for Lymphocyte Migration Studies Analysis by Flow Cytometry and Fluorescent Microscopy", *J. Immunol. Methods*, 1990, 133, 87.
- 4) C. K. Raymond, P. J. O'hara, G. Eichinger, J. H. Rothman and T. H. Stevens, "Molecular Analysis of the Yeast VPS3 Gene and the Role of Its Product in Vacuolar Protein Sorting and Vacuolar Segregation during the Cell Cycle", *J. Cell Biol.*, 1990, 111, 877.
- 5) G. Radcliff, R. Waite, J. Lefevre, M. D. Poulik and D. M. Callewaert, "Quantification of Effector/Target Conjugation Involving Natural Killer(NK) or Lymphokine Activated Killer(LAK) Cells by Two-color Flow Cytometry", *J. Immunol. Methods*, 1991, 139, 281.
- 6) S. A. Weston and C. R. Parish, "Calcein: a Novel Marker for Lymphocytes Which Enter Lymph Nodes", *Cytometry*, 1992, 13, 739.
- 7) L. S. D. Clerck, C. H. Bridts, A. M. Mertens, M. M. Moens and W. J. Stevens, "Use of Fluorescent Dyes in the Determination of Adherence of Human Leucocytes to Endothelial Cells and the Effects of Fluorochromes on Cellular Function", *J. Immunol. Methods*, 1994, 172, 115.

最新の情報は web へ で検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

-Cellstain® - CytoRed solution同仁品コード：C410
1 ml ¥13,600

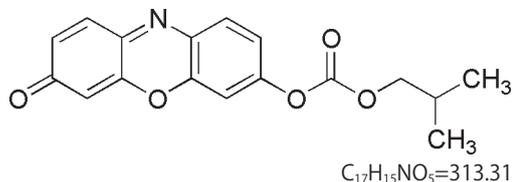
7-Isobutyloxycarbonyloxy-3H-phenoxazin-3-one, DMSO solution

Protocol: 「細胞を染色したい」

1 mmol/l DMSO 溶液

規格 (1) 性状：黄橙色液体
(2) 含量：試験適合取扱注意 1. 危険物第四類第三石油類 危等III
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷凍，遮光危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
感嘆符

構造式



性質 CytoRed は生細胞内に取りこまれたあと、細胞内のエステラーゼによって加水分解され蛍光性の Resorufin ($\lambda_{ex}/\lambda_{em}=535/590$ nm) となる。したがって、生細胞を蛍光染色することが出来る。同様の生細胞染色色素として Calcein-AM が知られているが、CytoRed はより長波長域に比較的広い範囲での蛍光を持つため蛍光顕微鏡下で

G 励起もしくは B 励起での観測が可能である (推奨 G 励起)。本品は使いやすい DMSO 溶液であるので試薬を量り取ったり溶解する手間が不要である。また Cell viability assay への応用例も報告されている¹⁾。
蛍光特性： $\lambda_{ex}=535$ nm, $\lambda_{em}=590$ nm

最新の情報は web へ 同仁化学 C410 で検索

参考文献

- 1) M. Ishiyama, H. Furusawa, M. Shiga, F. Ohseto and K. Sasamoto, "A Resorufin Derivative as a Fluorogenic Indicator for Cell Viability", *Anal. Sci.*, 1999, 15, 1025.

-Cellstain® - FDA同仁品コード：F209
1 mg ¥4,800 348-07411Fluorescein diacetate
[CAS No. 596-09-8]

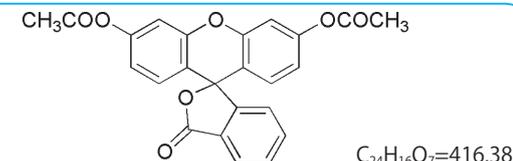
Protocol: 「細胞を染色したい」

規格 (1) 性状：白色結晶性粉末又は固体
(2) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合

溶解例 1 mg/0.5 ml (ジメチルスルホキシド)

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式



性質 Fluorescein diacetate (FDA) は 1966 年、Rotman らにより生細胞のみを蛍光染色する染色剤として報告されている。FDA が細胞内に取り込まれると、細胞内の各種酵素により加水分解され蛍光性の Fluorescein となることから生細胞が蛍光染色される。FDA は生細胞蛍光染色色素として、蛍光顕微鏡下での形態観察、PI などの核染色色素とともに二重染色に使用されている。また、フローサイトメトリーへの応用は、Hulett らにより 1969 年に行われて以来、数多く行われている。

【注意】

本品は、通常、チューブ底面にフィルム状に附着した状態となっております。
稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に附着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

蛍光特性： $\lambda_{ex}=488$ nm, $\lambda_{em}=530$ nm

最新の情報は web へ 同仁化学 F209 で検索

参考文献

- 1) B. Rotman and B. W. Papermaster, "Membrane Properties of Living Mammalian Cells as Studied by Enzymatic Hydrolysis of Fluorogenic Esters", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1966, 55, 134.
2) H. R. Hulett, W. A. Bonner, J. Barrett and L. A. Herzenberg, "Cell Sorting: Automated Separation of Mammalian Cells as a Function of Intercellular Fluorescence", *Science*, 1969, 166, 747.
3) K. H. Jones and J. A. Senft, "An Improved Method to Determine Cell Viability by Simultaneous Staining with Fluorescein Diacetate-Propidium Iodide", *J. Histochem. Cytochem.*, 1985, 33, 77.
4) K. McGinnes, G. Chapman, R. Marks and R. Penny, "A Fluorescence NK Assay Using Flow Cytometry", *J. Immunol. Methods*, 1986, 86, 7.
5) W. M. J. Vuist, F. V. Buitenen, M. A. De Rie, A. Hekman, P. Ruemke and C. J. M. Melief, "Potentiation by Interleukin 2 of Burkitt's Lymphoma Therapy with Anti-Pan B (Anti-CD19) Monoclonal Antibodies in a Mouse Xenotransplantation Model", *Cancer Res.*, 1989, 49, 3783.
6) E. Prosperi, "Intracellular Turnover of Fluorescein Diacetate. Influence of Membrane Ionic Gradients on Fluorescein Efflux", *Histochem. J.*, 1990, 22, 227.

5-3 死細胞染色用色素

-Cellstain® - DAPI

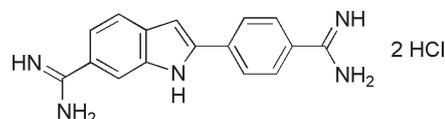
4',6-Diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride
〔CAS No. 28718-90-3〕

Protocol: 「細胞を染色したい」

同仁品コード: D212
1 mg ¥4,800 342-07431

- 規格 (1) 性状: 黄色粉末又は固体
(2) 水溶状: 試験適合
(3) NMR スペクトル: 試験適合
- 取扱注意 1. 保存方法: 冷凍, 遮光

構造式

C₁₆H₁₇Cl₂N₅=350.25

-Cellstain® - DAPI solution

4',6-Diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride, solution
〔CAS No. 28718-90-3(DAPI)〕

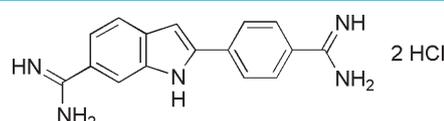
Protocol: 「細胞を染色したい」

1 mg/ml buffer

同仁品コード: D523
1 ml ¥5,600 340-07971

- 規格 (1) 性状: 微黄色～黄色液体
(2) 含量: 試験適合
- 取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵, 遮光

構造式

C₁₆H₁₇Cl₂N₅=350.25

性質 DAPIは1977年、抗トリパノソーム薬の探索のために Dannらによって合成された蛍光性の色素で、蛍光顕微鏡下、酵母のミトコンドリア、葉緑素、ウイルス、マイコプラズマ、染色体中のDNA検出に使用されている¹⁾。460 nmに青色の蛍光を持ち(励起波長360 nm)、DNAのAT配列に特異的な minor groove binderである。DAPIの光耐性は高く、HBO 200水銀ランプ、3 mm厚のBG 12フィルターの下でHoechst 33258の約2倍と高い。

本製品はDNAと作用するため変異原性を示す疑いがあることから、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

なお、-Cellstain®- DAPI solutionは動物細胞の死細胞染色蛍光色素として使用されるが、DAPI自体は細菌の生菌染色色素としても利用することができる³⁾。生菌染色用としては -Bacstain®- DAPI solution(Code: BS04)を別途ご用意しており、こちらをご活用いただきたい。

注意事項

DAPIストック溶液を作成する場合には、水を使用する(PBSには溶解しにくい)。

ただし、水に溶解したものは長期保存には適していない。長期保存をお考えの際は、溶液の安定性を高めた溶液タイプの製品 -Cellstain®- DAPI solution(Code: D523)をご使用いただきたい。

蛍光特性: $\lambda_{ex}=360\text{ nm}$, $\lambda_{em}=460\text{ nm}$

【注意】

-Cellstain®- DAPIは、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。

稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

- 1) W. Schnedl, A. V. Mikelsaar, M. Breitenbach and O. Dann, "DIPI and DAPI: Fluorescence Banding with Only Negligible Fading", *Hum. Genet.*, 1977, 36, 167.
- 2) I. W. Taylor and B. K. Milthorpe, "An Evaluation of DNA Fluochromes, Staining Techniques, and Analysis for Flow Cytometry. I. Unperturbed Cellpopulations", *J. Histochem. Cytochem.*, 1980, 28(11), 1224.
- 3) F. Otto and K. G. Tsou, "A Comparative Study of DAPI, DIPI, and Hoechst 33258 and 33342 as Chromosomal DNA Stains", *Stain Technol.*, 1985, 60, 7.
- 4) N. Poulin, A. Harrison and B. Palcic, "Quantitative Precision of an Automated Image Cytometric System for the Measurement of DNA Content and Distribution in Cells Labeled with Fluorescent Nucleic Acid Stains", *Cytometry*, 1994, 16, 227.
- 5) M. Kawai, N. Yamaguchi and M. Nasu, "Rapid Enumeration of Physiologically Active Bacteria in Purified Water Used in the Pharmaceutical Manufacturing Process", *J. Appl. Microbiol.*, 1999, 86 (3), 496.

最新の情報は webへ 同仁化学 D212/D523 で検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

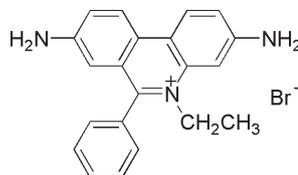
-Cellstain® - EB3,8-Diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium bromide
〔CAS No. 1239-45-8〕**Protocol:** 「細胞を染色したい」同仁品コード：E262
1 mg ¥4,600 346-07451

規格 (1) 性状：赤褐色粉末又は固体
(2) 水溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
どくろ 健康有害性

構造式

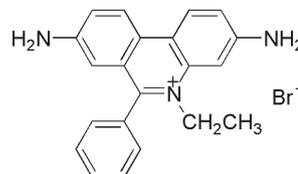
C₂₁H₂₀BrN₃=394.31**-Cellstain® - EB solution**3,8-Diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium bromide, solution
〔CAS No. 1239-45-8(EB)〕**Protocol:** 「細胞を染色したい」1 mg/ml H₂O同仁品コード：E272
1 ml ¥5,600 348-07891

規格 (1) 性状：橙色～赤色液体
(2) 含量：試験適合

取扱注意 1. 保存方法：冷凍，遮光

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
どくろ 健康有害性

構造式

C₂₁H₂₀BrN₃=394.31

性質 本製品は変異原性があるため、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

蛍光特性：λ_{ex}=520～525 nm, λ_{em}=615 nm**【注意】**

-Cellstain® - EB は、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。
稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

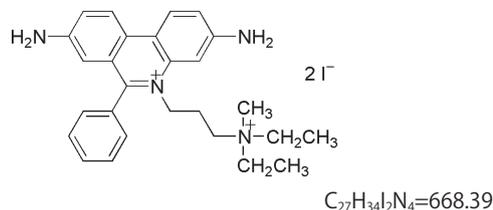
- 1) I. W. Taylor and B. K. Milthorpe, "An Evaluation of DNA Fluochromes, Staining Techniques, and Analysis for Flow Cytometry. I. Unpermeabilized Cellpopulations", *J. Histochem. Cytochem.*, 1980, 28(11), 1224.

最新の情報は web へ [同仁化学 E262/E272](#) で検索

-Cellstain[®] - PI3,8-Diamino-5-[3-(diethylmethylammonio)propyl]-6-phenylphenanthridinium diiodide
〔CAS No. 25535-16-4〕**Protocol:** 「細胞を染色したい」同仁品コード：P346
1 mg ¥4,600 343-07461

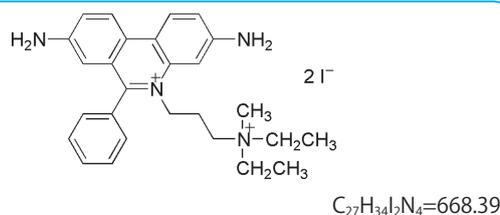
- 規格** (1) 性状：赤褐色粉末又は固体
(2) 水溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵，遮光

構造式

**-Cellstain[®] - PI solution**3,8-Diamino-5-[3-(diethylmethylammonio)propyl]-6-phenylphenanthridinium diiodide, solution
〔CAS No. 25535-16-4(PI)〕**Protocol:** 「細胞を染色したい」1 mg/ml H₂O同仁品コード：P378
1 ml ¥5,600 341-07881

- 規格** (1) 性状：橙色～赤色液体
(2) 含量：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷凍，遮光

構造式



性質 Propidium iodide(PI) は ethidium bromide とともに phenanthridium 系染料に分類されるカチオン性の蛍光色素であり、DNA の二重らせん構造に intercalate することにより特有の赤色蛍光が増強される核酸染色色素である。一部は二本鎖構造の RNA とも結合するため、正確な DNA 染色のためには、二本鎖構造の RNA の除去が必要である。一般に生細胞の細胞膜は透過せず、死細胞にのみ入り込み核内の DNA に intercalate し赤色蛍光を発する。したがって、死細胞染色色素として利用される。また、PI は Calcein-AM や FDA などの fluorescein 系の色素と共に用い、生死細胞の二重染色に数多く用いられ、またフローサイトメトリーへの応用例も数多い。

本製品は変異原性があるため、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくしている。

蛍光特性：λ_{ex}=530 nm, λ_{em}=620 nm

【注意】

-Cellstain[®]- PI は、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

- 1) I. W. Taylor and B. K. Milthorpe, "An Evaluation of DNA Fluochromes, Staining Techniques, and Analysis for Flow Cytometry. I. Unperturbed Cellpopulations", *J. Histochem. Cytochem.*, 1980, 28(11), 1224.
- 2) W. M. J. Vuist, F. V. Buitenen, M. A. De Rie, A. Hekman, P. Ruemke and C. J. M. Melief, "Potentiation by Interleukin 2 of Burkitt's Lymphoma Therapy with Anti-Pan B (Anti-CD19) Monoclonal Antibodies in a Mouse Xenotransplantation Model", *Cancer Res.*, 1989, 49, 3783.
- 3) A. K. El-Naggar, J. G. Batsakis, K. Teague, L. Garnsey and B. Barlogie, "Single- and Double-stranded RNA Measurements by Flow Cytometry in Solid Neoplasms", *Cytometry*, 1991, 12, 330.
- 4) C. Souchier, M. Ffrench, M. Benchaib, R. Catallo and P. A. Bryon, "Methods for Cell Proliferation Analysis by Fluorescent Image Cytometry", *Cytometry*, 1995, 20, 203.
- 5) T. Irino, T. Kitoh, K. Koami, T. Kashima, K. Mukai, E. Takeuchi, T. Hongo, T. Nakahata, S. M. Schuster and M. Osaka, "Establishment of Real-Time Polymerase Chain Reaction Method for Quantitative Analysis of Asparagine Synthetase Expression", *Mol. Diagn.*, 2004, 6, 217.

最新の情報はこちらへ [同仁化学 P346/P376](#) で検索

細胞
増殖/毒性
酸化
ストレス
分子
生物学
細胞内
蛍光プローブ
細胞
染色
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

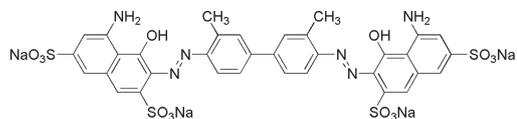
-Cellstain® - Trypan Blue

同仁品コード：T375
5 g ¥7,600 345-07421

3,3'-[3,3'-Dimethyl(1,1'-biphenyl)-4,4'-diyl]bis(azo)
bis(5-amino-4-hydroxy-2,7-naphthalenedisulfonic acid), tetrasodium salt
〔CAS No. 72-57-1〕

規格 (1) 性状：黒褐色結晶性粉末
(2) 水溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合

取扱注意 1. 安衛法 特定化学物質
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
健康有害性

**構造式**

$$C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4=960.81$$

性質 細胞死の一般的な判定方法として、古くから最も多く用いられているものが Trypan Blue を用いた分染法と呼ばれる一種の生体染色法である。dye exclusion test と呼ばれるもので、通常生細胞は染色されず、死細胞のみが染色されるので、血球計算板を用いて極めて簡便に死細胞を検出・計測できる。培養細胞では Trypan Blue の青色染料が多く使用されているが、erythrosin B の赤色染料の他、negrosin や eosin Y などとも使用される。また、最近で

は AO や EB などの蛍光色素も同目的のために使用されてきている。

同じ細胞、同一条件下でも使用する色素によって染色性に差があり、どの色素を用いるかによって死細胞の割合が異なるという難点もあるが、簡便で、同一の系では再現性が高く、細胞死一般の判定法としては広く用いられている方法である。

参考文献

- 1) K. H. Jones and J. A. Senft, "An Improved Method to Determine Cell Viability by Simultaneous Staining with Fluorescein Diacetate-Propidium Iodide", *J. Histochem. Cytochem.*, 1985, 33, 77.

最新の情報は web へ で検索

細胞
増殖/毒性
酸化
ストレス
分子
生物学
細胞内
蛍光プローブ
細胞
染色
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

5-4 核染色用色素

-Cellstain® - AO

3,6-Bis(dimethylamino)acridine, hydrochloride
〔CAS No. 65-61-2〕

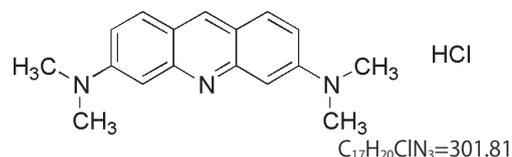
Protocol: 「細胞を染色したい」

同仁品コード: A386
1 mg ¥5,200 349-07441

規格 (1) 性状: 赤褐色粉末又は固体
(2) 水溶状: 試験適合
(3) NMR スペクトル: 試験適合

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵, 遮光

構造式



-Cellstain® - AO solution

3,6-Bis(dimethylamino)acridine, hydrochloride, solution
〔CAS No. 65-61-2(AO)〕

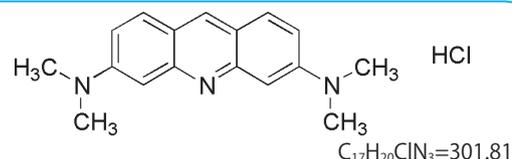
Protocol: 「細胞を染色したい」

1 mg/ml H₂O同仁品コード: A430
1 ml ¥5,600 348-07911

規格 (1) 性状: 黄色～橙色液体
(2) 含量: 試験適合

取扱注意 1. 保存方法: 冷凍, 遮光

構造式



性質 Acridine Orange (AO) は、dsDNA に結合して 526 nm の緑色の蛍光 (励起波長 502 nm) を発し、ssDNA や RNA に結合して 650 nm の赤色の蛍光 (励起波長 460 nm) を発する核酸染色色素である。

二本鎖構造の核酸に取り込まれる場合、まずリン酸と静電的に結合して二本鎖の中に 3 塩基対に対し 1 個の割合で取り込まれる。この時、挿入された AO は互いに隣接することなく単量体で存在し、その結果 AO 本来の蛍光スペクトル (526 nm) を示す。単鎖構造の核酸に取り込まれる場合、リン酸基と最大 1 対 1 の割合で静電的に結合し、隣接する AO 分子間で stacking や aggregation を起こす。その結果、単量体の場合と異なる蛍光 (650 nm) を示すようになる。このように AO のみで二本鎖、及び単鎖型 DNA や RNA を分別染色することができ、Ar レーザーで励起することにより DNA と RNA の同時観察が、また、フローサイトメトリー

を用いて同時定量解析ができるという特徴がある。

本製品は変異原性があるため、使いきりタイプとして製品化した。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

蛍光特性: (dsDNA) $\lambda_{ex} = 500 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 520 \text{ nm}$,
(ssDNA) $\lambda_{ex} = 420 \sim 460 \text{ nm}$,
 $\lambda_{em} = 630 \sim 650 \text{ nm}$

【注意】

-Cellstain®- AO は、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。

稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

- 1) I. W. Taylor and B. K. Milthorpe, "An Evaluation of DNA Fluochromes, Staining Techniques, and Analysis for Flow Cytometry. I. Unperturbed Cellpopulations", *J. Histochem. Cytochem.*, 1980, 28(11), 1224.
- 2) N. Miyoshi, K. Hara, I. Yokoyama, G. Tomita and M. Fukuda, "Fluorescence Lifetime of Acridine Orange in Sodium Dodecyl Sulfate Premicellar Solutions", *Photochem. Photobiol.*, 1988, 47(5), 685.
- 3) A. K. El-Naggar, J. G. Batsakis, K. Teague, L. Garnsey and B. Barlogie, "Single- and Double-stranded RNA Measurements by Flow Cytometry in Solid Neoplasms", *Cytometry*, 1991, 12, 330.
- 4) Y. Miyakoshi, H. Yoshioka, Y. Toyama, Y. Suzuki and H. Shimizu, "The Frequencies of Micronuclei Induced by Cisplatin in Newborn Rat Astrocytes Are Increased by 50-Hz, 7.5- and 10-mT Electromagnetic Fields", *Environ. Health and Prev. Med.*, 2005, 10(3), 138.

最新の情報は web へ で検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質ラベル
化学剤
二価性試薬
酸化還元イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

-Cellstain® - Hoechst 33258 solution

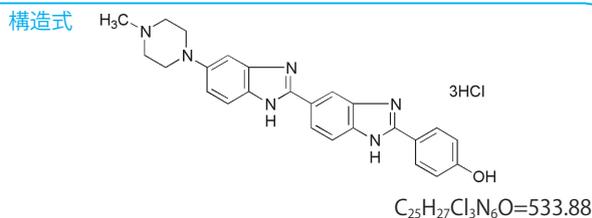
2'-(4-Hydroxyphenyl)-5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2,5'-bi-1*H*-benzimidazole, trihydrochloride, solution
〔CAS No. 23491-45-4(Hoechst 33258)〕

Protocol: 「細胞を染色したい」

1 mg/ml H₂O

同仁品コード：H341
1 ml ¥4,800 343-07961

規格 (1) 性状：黄色液体
(2) 含量：試験適合
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光



性質 核染色剤として一般的に用いられる Hoechst 33258 を使いやすいように溶液にした製品である。

Hoechst 33258 は生細胞に取り込まれ、DNA の AT 配列の副溝に結合する蛍光色素であり、染色体分析などにも用いられる。

本製品は変異原性があるため、溶液タイプとして製品化し

た。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

蛍光特性：
Hoechst 33258 λ_{ex}=350 nm, λ_{em}=461 nm

参考文献

- 1) M. J. Lydon, K. D. Keeler and D. B. Thomas, "Vital DNA Staining and Cell Sorting by Flow Microfluorometry", *J. Cell Physiol.*, 1980, 102(2), 175.
- 2) M. Sriram, van der G. A. Marel, H. L. Roelen, van J. H. Boo and A. H. Wang, "Structural Consequences of a Carcinogenic Alkylation Lesion on DNA: Effect of *O*-ethylguanine on the Molecular Structure of the d(CG[C^{e6}G]AATTCGCG)-netropsin Complex", *Biochemistry*, 1992, 31(47), 11823.
- 3) T. Ohara and T. Tsuge, "FoSTUA, Encoding a Basic Helix-Loop-Helix Protein, Differentially Regulates Development of Three Kinds of Asexual Spores, Macroconidia, Microconidia, and Chlamyospores, in the Fungal Plant Pathogen *Fusarium oxysporum*", *Eukaryot. Cell*, 2004, 3, 1412.

-Cellstain® - Hoechst 33342 solution

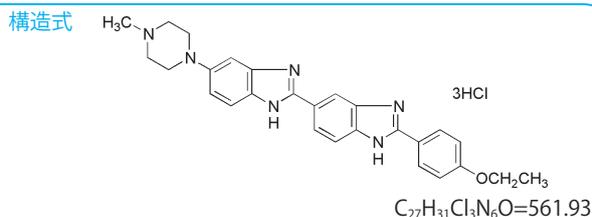
2'-(4-Ethoxyphenyl)-5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2,5'-bi-1*H*-benzimidazole, trihydrochloride, solution
〔CAS No. 23491-52-3(Hoechst 33342:free base)〕

Protocol: 「細胞を染色したい」

1 mg/ml H₂O

同仁品コード：H342
1 ml ¥4,800 346-07951

規格 (1) 性状：黄色液体
(2) 含量：試験適合
取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光



性質 核染色剤として一般的に用いられる Hoechst 33342 を使いやすいように溶液にした製品である。

Hoechst 33342 は生細胞に取り込まれ、DNA の AT 配列の副溝に結合する蛍光色素であり、染色体分析などにも用いられる。

本製品は変異原性があるため、溶液タイプとして製品化し

た。秤量する時の実験室内への粉末の飛散を防ぎ使いやすくなっている。

蛍光特性：
Hoechst 33342 λ_{ex}=352 nm, λ_{em}=461 nm

参考文献

- 1) M. J. Lydon, K. D. Keeler and D. B. Thomas, "Vital DNA Staining and Cell Sorting by Flow Microfluorometry", *J. Cell Physiol.*, 1980, 102(2), 175.
- 2) M. Sriram, van der G. A. Marel, H. L. Roelen, van J. H. Boo and A. H. Wang, "Structural Consequences of a Carcinogenic Alkylation Lesion on DNA: Effect of *O*-ethylguanine on the Molecular Structure of the d(CG[C^{e6}G]AATTCGCG)-netropsin Complex", *Biochemistry*, 1992, 31(47), 11823.
- 3) Y. Tadokoro, K. Yomogida, Y. Yagura, S. Yamada, M. Okabe and Y. Nishimune, "Characterization of Histone H2A.X Expression in Testis and Specific Labeling of Germ Cells at the Commitment Stage of Meiosis with Histone H2A.X Promoter-Enhanced Green Fluorescent Protein Transgene", *Biol. Reprod.*, 2003, 69, 1325.
- 4) F. Wada, A. Ogawa, Y. Hanai, A. Nakamura, M. Maki and K. Hitomi, "Analyses of Expression and Localization of Two Mammalian-Type Transglutaminases in Physarum polycephalum, an Acellular Slime Mold", *J. Biochem.(Tokyo)*, 2004, 136, 665.

最新の情報は [web](#) へ [同仁化学 H341/H342](#) で検索

5-5 ミトコンドリア染色用色素

Protocol: 「ミトコンドリアを染色したい」

MitoBright Green

同仁品コード: MT06
50 µg × 3 ¥9,800規格 (1) 性状: 橙色固体
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上

MitoBright Red

同仁品コード: MT07
50 µg × 3 ¥9,800規格 (1) 性状: 赤紫色固体
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上

取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵, 遮光

MitoBright Deep Red

同仁品コード: MT08
50 µg × 3 ¥9,800規格 (1) 性状: 濃青色固体
(2) 純度 (HPLC): 90.0% 以上

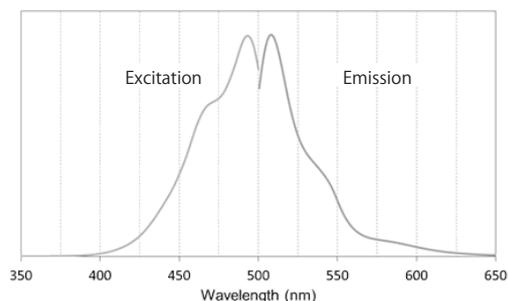
取扱注意 1. 保存方法: 冷蔵, 遮光

性質 細胞内には様々な器官が存在し、各々が生命活動に必要な役割を担っている。中でもミトコンドリアは、酸化リン酸化による ATP 産生の場合だけでなく、その活性や機能障害が癌や老化、アルツハイマーやパーキンソン病等の神経変性疾患などと密接に関連する非常に重要な細胞内オルガネラの一つである。

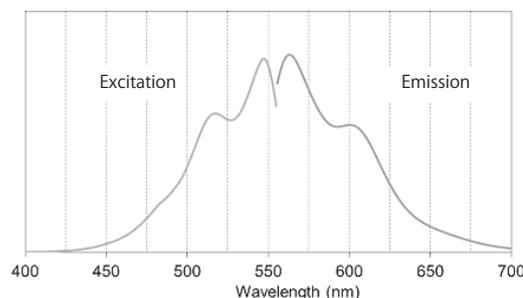
“MitoBright” は生細胞のミトコンドリアを染色する蛍光試薬である。染色はミトコンドリアの膜電位に依存しており、細胞膜透過後、正常なミトコンドリアに特異的に集積する。また、集積後、ミトコンドリアとの強い相互作用により色素の滞留性がある。

(開発元: Dojindo Molecular Technologies, Inc.)

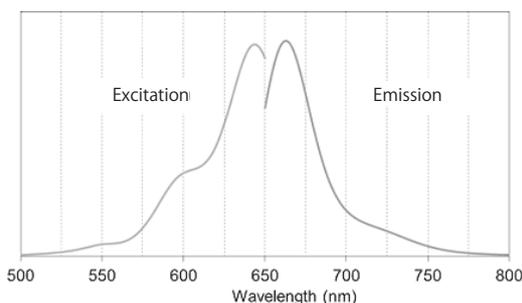
MitoBright Green の励起・蛍光スペクトル



MitoBright Red の励起・蛍光スペクトル



MitoBright Deep Red の励起・蛍光スペクトル



MitoBright の特徴

製品名	極大励起 [λ ex]	極大蛍光 [λ em]	生細胞染色	染色後の PFA 固定	固定後の染色	多重染色
MitoBright Green	493 nm	508 nm	○	○	×	○
MitoBright Red	547 nm	563 nm	○	○	×	○
MitoBright Deep Red	643 nm	663 nm	○	○	×	○

最新の情報は web へ [同仁化学 MT06/MT07/MT08](#) で検索

*表示している希望納入価格は「本体価格のみ」で消費税等は含まれておりません。社会状況の変動により、予告なしに変更することがありますので、最新の価格は HP にてご確認ください。

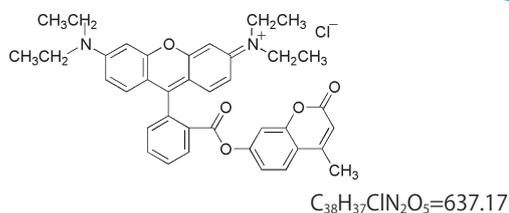
-Cellstain® - MitoRed同仁品コード：R237
50 µg × 8 ¥16,000

9-[2-(4'-Methylcoumarin-7'-oxycarbonyl)phenyl]-3,6-bis(diethylamino)xanthylum chloride

Protocol: 「細胞を染色したい」

- 規格** (1) 性状：赤紫色～紫褐色固体
(2) ジメチルスルホキシド溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 取扱注意** 1. 危険物第四類第三石油類 危等III
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷蔵，遮光
- 危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)**
感嘆符

構造式



性質 MitoRed は Rhodamine を基本骨格とする色素で細胞に取りこまれたあとミトコンドリアに集積する特長があるため、ミトコンドリアを特異的に染色することが可能である。20～200 nmol/l と非常に低濃度でかつ高感度に染色でき、ミトコンドリア選択性に優れた蛍光プローブである。

る。MitoRed は $\lambda_{ex}/\lambda_{em}=560\text{ nm}/580\text{ nm}$ の蛍光特性を持ち、蛍光顕微鏡 G 励起下で細胞内のミトコンドリアが赤色に蛍光染色されていることが観察できる。
本品には溶解用 DMSO が 1 ml 添付されている。

参考文献

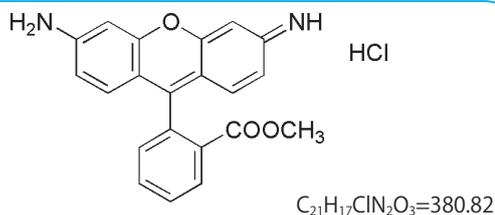
- 1) R. Ikeda, T. Sugita, E. S. Jacobson and T. Shinoda, "Effects of Melanin upon Susceptibility of Cryptococcus to Antifungals", *Microbiol. Immunol.*, 2003, 47(4), 271.

-Cellstain® - Rh123同仁品コード：R233
1 mg ¥8,900 349-079412-(6-Amino-3-imino-3H-xanthen-9-yl)benzoic acid methyl ester, hydrochloride
[CAS No. 62669-70-9]

Protocol: 「細胞を染色したい」

- 規格** (1) 性状：赤色～赤褐色粉末又は固体
(2) メチルアルコール溶状：試験適合
(3) NMR スペクトル：試験適合
- 取扱注意** 1. 保存方法：冷蔵，遮光

構造式



性質 Rh123(Rhodamine 123) は生細胞に容易に取り込まれ、ミトコンドリアに局在していることが 1980 年に Johnson らにより報告されている。ミトコンドリアは呼吸および代謝によって細胞に ATP を供給する細胞内器官である。最近、呼吸のときの副産物として産生される酸素ラジカルが発ガンおよび老化に関与していると言われ、注目されている。
蛍光特性： $\lambda_{ex}=507\text{ nm}$, $\lambda_{em}=529\text{ nm}$

【注意】

本品は、通常、チューブ底面にフィルム状に付着した状態となっております。
稀に、輸送中の振動等により本品がチューブ底面から外れ、チューブ壁面やキャップ裏に付着している場合がございます。内容物を下に落としてから開封をしてご使用ください。

参考文献

- 1) L. V. Johnson, M. L. Walsh and L. B. Chen, "Localization of mitochondria in living cells with rhodamine 123.", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1980, 77(2), 990.
2) C. S. Downes, M. J. Ord, A. M. Mullinger, A. R. Collins and R. T. Johnson, "Novobiocin inhibition of DNA excision repair may occur through effects on mitochondrial structure and ATP metabolism, not on repair topoisomerases", *Carcinogenesis*, 1985, 6(9), 1343.

最新の情報は web へ

5-6 組織染色用色素

FSB solution

1-Fluoro-2,5-bis(3-carboxy-4-hydroxystyryl)benzene, DMSO solution

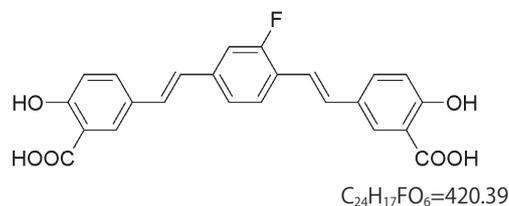
同仁品コード：F308
100 µl ¥28,300

Protocol: 「細胞染色したい」

- 規格** (1) 性状：淡黄色～黄褐色液体
(2) 吸光度：0.600～0.850(370 nm 付近)
- 取扱注意** 1. 危険物第四類 第三石油類 危険等級 III
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷蔵，遮光
- 危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)**
感嘆符



構造式



性質 アミロイドーシスはアミロイド (β シート線維構造を持つタンパク質) が臓器や組織細胞の外に沈着して、これらの臓器や組織の働きを阻害する病気である。アミロイドーシスには、優性遺伝で起きる「原発性アミロイドーシス」および慢性疾患や糖尿病などに合併してみられる「続発性アミロイドーシス」とがある。また全身の様々な部分にアミロイドが沈着する「全身性アミロイドーシス」と脳や皮膚など特定の部位にアミロイドが沈着する「限局性アミロイドーシス」にも分類され、これらはアミロイド前駆蛋白の違いによりさらに細分類されている。

弊社で販売している BSB は、全身性アミロイドーシスの沈着アミロイドを鋭敏に染色することが知られている¹⁾。in vivo の系においても全身性アミロイドーシスの1つである二次性アミロイドーシスを誘起したトランスジェニックマウスに BSB を静注すると、沈着アミロイド部分に BSB が集積していることが確認されている²⁾。他にも、限局性アミロイドーシスの1種であるアルツハイマー病の研究において、Skovronsky らはアミロイド前駆体タンパク質 (APP) を発現するトランスジェニックマウス Tg2576 に BSB を静注し、18 時間後の脳組織の老人斑 (SP) に色素が集積していることを確認したと報告している³⁾。また、BSB には染色だけでなく、遺伝性の全身性アミロイドーシスである家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) のアミロイド前駆体 TTR のアミロイド形成を阻止する働きがあることもわかっている¹⁾。

FSB は BSB の臭素をフッ素に変えた化合物で、Congo red などと比べて高感度であった BSB の約 2 倍の蛍光強度をもつ。これは臭素をフッ素に変えることで、重原子効果による蛍光消光をなくしたことから実現した。アミロイドを選択的に染色していることをアルツハイマー病、FAP および AL アミロイドーシスの病理組織の染色結果からも確認できている。

FSB は BSB とほぼ同じ骨格であるため、蛍光強度以外は BSB の特性をそのまま有していると考えられる。このこと

から様々なアミロイドでの高感度蛍光染色および in vivo での高感度検出が可能と推察される。

また樋口らは、アルツハイマー病モデルマウスを用いた in vivo の系で、静脈注射した FSB が投与数時間後に脳内に移行し、マウスの脳組織のアミロイド斑部分に FSB が集積していることを確認している。さらにはそのアミロイド部分を ¹⁹F-MRI で高感度に検出している⁵⁾。

今後、アルツハイマー病を含めたアミロイドーシス研究への更なる応用・発展が期待される。

※本製品は、理化学研究所との共有発明実施契約により製造したものです。

使用例

サンプルの固定法：エタノール固定もしくはホルマリン固定

操作方法

* 本製品は 1% FSB の DMSO 溶液である (1 mg FSB in 100 µl DMSO)。

本製品 1 本から、0.01% 濃度の染色液が 10 ml、0.0001% の染色液が 1,000 ml 調製できる。

1) FSB 染色液の調製

製品に 50% エタノールを加えて希釈し、0.01 ~ 0.0001% の濃度にする。

2) 染色

切片を FSB 染色液に 30 分間浸す。

切片を飽和炭酸リチウム水溶液に浸した後、50% エタノールにて軽く洗う。

3) 観察

UV 光 (V 励起) にて観察する。

蛍光特性： $\lambda_{ex}=390\text{ nm}$, $\lambda_{em}=511\text{ nm}$

注意事項：購入後は必要に応じて小分けして冷蔵保存すること。

参考文献

- 1) 安東 由喜雄, *Dojin News*, 2002, 104, 1.
- 2) Y. Ando, H. Terazaki, Y. Tanoue, K. Haraoka, K. Ishikawa, S. Katsuragi, M. Nakamura, X. Sun, K. Nakagawa, K. Sasamoto, K. Takesako, T. Ishizaki, Y. Sasaki and K. Doh-ura, "A novel tool for detecting amyloid deposits in systemic amyloidosis in vitro and in vivo." *Lab. Invest.*, 2003, 83(12), 1751.
- 3) D. M. Skovronsky, B. Zhang, M.-P. Kung, H. F. Kung, J. Q. Trojanowski and V. M.-Y. Lee, "In vivo Detection of amyloid Plaques in a Mouse Model of Alzheimer's Disease", *Proc. Natl. Acad. Soc. USA*, 2000, 97, 7609.
- 4) K. Sato, M. Higuchi, N. Iwata, T. C. Said and K. Sasamoto, "Fluoro-substituted and ¹³C-labeled styrylbenzene derivatives for detecting brain amyloid plaques", *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, 39, 573.
- 5) M. Higuchi, N. Iwata, Y. Matsuba, K. Sato, K. Sasamoto and T. C. Saido, "¹⁹F and ¹H MRI detection of amyloid β plaques in vivo", *Nature Neurosci.*, 2005, 8(4), 527.

最新の情報は web へ 同仁化学 F308 で検索

細胞増殖/毒性
酸化ストレス
分子生物学
細胞内蛍光プローブ
細胞染色
細菌研究用試薬
膜タンパク質
ラベル化剤
二価性試薬
酸化還元
イオン電極
シンチレーター
生化学用緩衝剤
キレート
比色/金属試薬
水質分析用
溶媒抽出
高純度溶媒
その他
機能性有機材料

BSB solution

1-Bromo-2,5-bis(3-carboxy-4-hydroxystyryl)benzene, DMSO solution
[CAS No. 291766-06-8(BSB)]

Protocol: 「細胞染色したい」

同仁品コード：B525
100 μl ¥23,100

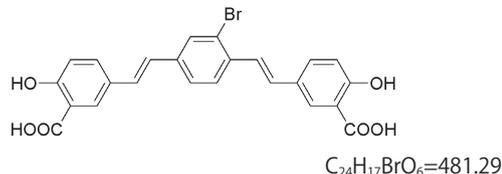
規格 (1) 性状：黄色～黄褐色液体
(2) 吸光度：1.000～1.500 (370 nm 付近)

取扱注意 1. 危険物第四類 第三石油類 危険等級Ⅲ
2. 火気厳禁 3. 保存方法：冷蔵，遮光

危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
感嘆符



構造式



性質

1. アミロイドβペプチド(Aβ)に対して高い親和性($K_i = 0.4 \mu\text{mol/l}$)¹⁾をもつ。
2. 従来の色素に比べ検出感度が高く、抗体による染色と同等の感度を有する。
3. 溶液タイプのため染色が簡単である。
4. 生細胞の染色も可能である。
5. 脂溶性物質で、脳-血液関門 (blood -brain barrier) を透過する。

アミロイドーシスはアミロイドが臓器や組織細胞の外に沈着してこれらの臓器や組織の働きを阻害する病気である。アミロイドーシスには、全身の様々な部分にアミロイド沈着が起こる「全身性アミロイドーシス」と一部の臓器のみに沈着が起こる「限局性アミロイドーシス」がある。全身性アミロイドーシスには熊本地方で患者の多い家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) と呼ばれる遺伝性のものがあり、肝臓でアミロイドを作り出し、それが全身の臓器などに沈着して障害を起こす。発症後10年で死に至る難病であるが、現在はドミノ肝移植などの治療により命を落とす危険性は少なくなっている²⁾。他にも高齢で非遺伝的に発症する老人性アミロイドーシスや、透析患者の治療で使用する透析膜では除けられないタンパク質が変化したアミロイドが引き起こす透析アミロイドーシス、リウマチで発現するタンパク質が切れて出来るアミロイドによる二次性アミロイドーシスなどがある。限局性アミロイドーシスには、アミロイドが脳に蓄積する老人斑 (SP) があり、アルツハイマー病の特徴の1つである³⁾。また、現在も問題となっている狂牛病 (牛海綿状脳症、BSE) や新型クロイツフェルト・ヤコブ病 (vCJD) も限局性アミロイドーシスの一種である。

BSBはアルツハイマー病の研究において最初に用いられ、Skovronskyらはアミロイド前駆体タンパク質 (APP) を発現するトランスジェニックマウス Tg2576 に BSB を静注し、18時間後の脳組織の SP に色素が集積していることを確認したと報告している¹⁾。

同様にアミロイドが沈着するその他のアミロイドーシスでも BSB を用いた研究が進められており、FAP、透析アミロイドーシスや二次性アミロイドーシスなどの組織染色を行った結果、アミロイドが沈着した部分を感度よく染色していることが確認された。また、BSE や vCJD を発症した組織でも同様の結果が得られている。

BSBは、従来の色素に比べ、親和性・検出感度共に高い蛍光色素である。Skovronskyらの結果から *in vivo* の系での使用も可能であると考えられている。従来の色素では組織染色など *in vitro* でしか検出できないものも多く、*in vivo* の系で沈着アミロイドを検出した報告はない。BSBは安定性や毒性などの研究は必要であるが、FAP や BSE を含めたアミロイドーシスの診断・治療などの研究へのさらなる応用が期待されている。

使用法

サンプルの固定法：エタノール固定もしくはホルマリン固定。

操作方法

*本製品は1%DMSO溶液である (1 mg BSB in 100 μl DMSO)。

本製品1本から、0.01%濃度の染色液が10 ml、0.0001%の染色液が1,000 ml調製できる。

- 1) BSB染色液の調製
製品に50%エタノールを加えて希釈し、0.01～0.0001%の濃度にする。
- 2) 染色
・切片をBSB染色液に30分間浸す。
・切片を飽和炭酸リチウム水溶液に浸した後、50%エタノールにて軽く洗う。
- 3) 観察
UV光 (V励起) にて観察する。
蛍光特性： $\lambda_{ex}=432 \text{ nm}$, $\lambda_{em}=532 \text{ nm}$

注意事項： 購入後は必要に応じて小分けして冷蔵保存すること。

参考文献

- 1) D. M. Skovronsky, B. Zhang, M.-P. Kung, H. F. Kung, J. Q. Trojanowski and V. M.-Y. Lee, "In vivo Detection of amyloid Plaques in a Mouse Model of Alzheimer's Disease", *Proc. Natl. Acad. Soc. USA*, 2000, 97, 7609.
- 2) 安東 由喜雄, 臨床病理, 2000, 48, 425.
- 3) 佐々本一美, *Dojin News*, 2001, 97, 11.
- 4) K. Ishikawa, K. Doh-ura, Y. Kuso, N. Nishida, I. Murakami-Kudo, Y. Ando, T. Sawada and T. Iwaki, "Amyloid Imaging Probes are Useful for Detection of Prion Plaques and Treatment of Transmissible Spongiform Encephalopathies", *J. Gen. Viol.*, 2004, 85, 1785.

最新の情報は web へ [同仁化学 B525](#) で検索

DAB

3,3'-Diaminobenzidine, tetrahydrochloride
〔CAS No. 7411-49-6〕

同仁品コード：D006

100 mg ￥6,000 343-00901

1 g ￥18,400 349-00903

5 g ￥68,000 347-00904

規格

- (1) 性状：白色～桃灰色粉末
- (2) 純度（滴定，乾燥物換算）：97.0% 以上
- (3) 水溶状：試験適合
- (4) トリス緩衝液溶状：試験適合
0.040 以下 (500 nm) 0.080 以下 (400 nm)
- (5) 吸光度（セレン錯体）：0.500 以上
(420 nm 付近)
- (6) 乾燥減量：5.0% 以下
- (7) 強熱残分（硫酸塩）：0.05% 以下
- (8) IR スペクトル：試験適合

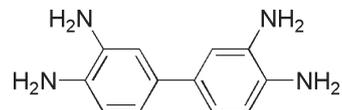
溶解例

1 g/50 ml(水)、150 mg/5 ml
(50 mmol/l トリス緩衝液、pH7.6)

取扱注意 1. 保存方法：冷蔵，遮光
危険・有害性シンボルマーク (GHS 表示)
健康有害性



構造式



4HCl

C₁₂H₁₈Cl₄N₄=360.11

性質 光に鋭敏で、直接日光にさらせば灰色を経て茶褐～黒褐色になり、着色したものは精製できない。従って、遮光密栓の上、乾燥した冷暗所に保存する。着色した工業品が試薬として安価に市販されていることもあるが、Se の定量には利用できない。水にはよく溶けるが、有機溶媒には溶けない。Se と特異的に反応して濃黄のピアセレンールを生成し、トルエンなどの有機溶媒に抽出できるので、Se のすぐれた吸光度定量試薬となり、精製硫酸 (JIS K 1306)、工場排水 (JIS K 0102) などに広く利用される。また、H₂O₂、ペルオキシダーゼの存在で鋭敏に反応するので、酸化酵素系の検出試薬としても応用されている。

応用可能な物質

検出試薬として：ペルオキシダーゼ
比色試薬として：Se, V, ジアセチル
蛍光比色試薬として：Se

比色条件 Se 比色 (pH6～7、トルエン中 420 nm $\epsilon = 2.0 \times 10^4$ 、0～50 μg)、Se 蛍光比色 (シクロヘキサン中、520 nm、0.001～0.1 ppm)。多くの金属の妨害は EDTA でマスキングできる。SO₄²⁻ の存在は DAB と不溶性の硫酸塩を生じて妨害する。多量の塩化アンモニウムの添加でその妨害を抑えることができる。

応用例

- (1) Se の比色定量：50 μg 以下の Se を含む試料に 2.5 mol/l 硝酸 2 ml を加えて、水で 50 ml に希釈し、pH2

～3 とする (1～2 mol/l 酸性液中でも使用可能)。この溶液に 0.5% DAB 水溶液 2 ml を加え 30～50 分放置する。次にアンモニア水で pH を 6～7 に調整して分液ロートに移し、トルエンを正確に 10 ml 加え、30 秒間激しく振とうする。数分間静置し上層の透明なトルエン層をとり、420 nm における吸光度を測定する。対照液としては試料の代わりに蒸留水を用いて同様の操作を行ったものを用いる。

- (2) ジアセチルの比色定量：DAB は Se の比色試薬として用いられる以前からジアセチルの比色試薬として利用されていたが、チーズ中のジアセチルの定量試薬として優れている。試料は特殊な蒸留装置を用いて蒸留後、DAB を加え発色させ 366 nm で比色する。pH6.7 で蒸留すれば 100% 抽出される。25 g のバター中に 1.9 μg 、国産チーズ中 4.2 ppm 程度存在する。
- (3) 生化学的応用：DAB はペルオキシダーゼの細胞組織染色で褐色の色素を生成し、OsO₄ による固定も極めて容易に行われる。試料を 2～3 mm の厚さに切り出し、ホルマリン処理後、DAB-Tris 染色液 (DAB 30 mg、ショ糖 4.3 g を pH8.4 Tris-HCl 緩衝液 50 ml にとかし、1 mol/l HCl 約 1 ml を加えて pH7.2 に調整したものを空气中に放置後ろ過し、その 9 ml を pH7.2 Tris-HCl 緩衝液 1 ml と混合する) で染色し、所定の固定処理後、電顕観測する。また、DAB 酸化物はゼラチンがあると沈着が妨害されるので、この方法でペルオキシダーゼを比色 (465 nm) することもできる。

最新の情報は web へ で検索

参考文献

- 1) A. B. Novikoff, P. M. Novikoff, C. Davis and N. Quintana, "Studies on Microperoxisomes V. Are Microperoxisomes Ubiquitous in Mammalian Cells", *J. Histochem. Cytochem.*, 1973, 21, 737.
- 2) V. Herzog and H. D. Fahimi, "A New Sensitive Colorimetric Assay for Peroxidaase Using 3, 3'-Diaminobenzidine as Hydrogen Donor", *Anal. Biochem.*, 1973, 55, 554.
- 3) H. Yamada, S. Mori, S. Ueda, M. Kawata and Y. Sano, "Improvement of Technique of Immunohistochemical Demonstration of Bioactive Substances in the Central Nervous System", *Acta Histochem. Cytochem.*, 1987, 20, 629.
- 4) K. L. Cheng, "Determination of Traces of Selenium 3,3'-Diaminobenzidine as Selenium(IV) Organic Reagent", *Anal. Chem.*, 1956, 28, 1738.

細胞
増殖/毒性
酸化
ストレス
分子
生物学
細胞内
蛍光プローブ
細胞
染色
細菌研究用
試薬
膜タン
パク質
ラベル
化剤
二価性
試薬
酸化
還元
イオン
電極
シンチ
レーター
生化学用
緩衝剤
キレート
比色/金属
試薬
水質
分析用
溶媒
抽出
高純度
溶媒
その他
機能性
有機材料

TMBZ

3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine
[CAS No. 54827-17-7]

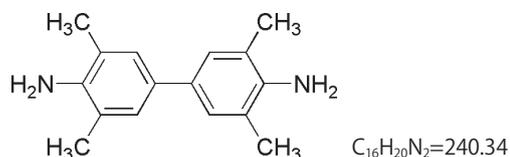
同仁品コード：T022

1 g ¥6,800 346-04031

5 g ¥24,600 342-04033

- 規格** (1) 性状：白色～淡灰褐色結晶性粉末
(2) 純度 (HPLC)：99.0% 以上
(3) メチルアルコール溶状：試験適合
(4) モル吸光係数：24,000 以上 (287 nm 付近)
(5) 融点：165～171℃
(6) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 1 g/100 ml(熱メチルアルコール)

構造式



性質 水にはあまり溶けないが、メチルアルコールに溶ける。水溶液はほとんど無色であるが、過酸化水素、ペルオキシダーゼの存在で鋭敏に青緑色 ($\lambda_{max}=655$ nm) に発色するので、種々の生体試料中のペルオキシダーゼの検出、定量

に利用できる。従来、この目的に用いられていたベンジジン、*o*-トリジン、*o*-ジアニジン、DAB などより発色は深色移動しており、発がん性もないといわれている。

参考文献

- V. R. Holland, B. C. Saunders, F. L. Rose and A. L. Walpole, "A Safer Substitute for Benzidine in the Detection of Blood", *Tetrahedron*, 1974, 30, 3299.
- W. Levin, D. Ryan, S. West and A. Y. H Lu, "Preparation of Partially Purified, Lipid-depleted Cytochrome P-450 and Reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate-cytochrome c Reductase from Rat Liver Microsomes", *J. Biol. Chem.*, 1974, 249, 1747.
- P. E. Thomas, D. Ryan and W. Levin, "An Improved Staining Procedure for the Detection of the Peroxidase Activity of Cytochrome p-450 on Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gels", *Anal. Biochem.*, 1976, 75, 168.
- H. H. Liem, F. Cardenas, M. Tavassoli, M. B. Poh-Fitzpatrick and U. Muller-Eberhard, "Quantitative Determination of Hemoglobin and Cytochemical Staining for Peroxidase Using 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine dihydrochloride, a Safe Substitute for Benzidine", *Anal. Biochem.*, 1979, 98, 388.
- R. C. Lijana and M. C. Williams, "Tetramethylbenzidine- A substitute for Benzidine in Hemoglobin Analysis", *J. Lab. Clin. Med.*, 1979, 94, 266.
- R. M. Jaffe and W. Zierdt, "A New Occult Blood Test Not Subject to False-Negative Results from Reducing Substances", *J. Lab. Clin. Med.*, 1979, 93, 879.
- 吉野二男, "還元剤によっても偽陰性を示さない新しい潜血反応試薬", 臨床検査, 1980, 24, 140.
- K. Suzuki, H. Ota, S. Sasagawa, T. Sakatani and T. Fujikura, "Assay Method for Myeloperoxidase in Human Polymorphonuclear Leukocytes", *Anal. Biochem.*, 1983, 132, 345.
- 鈴木和男, 笹川澄子, 坂谷達一郎, 太田洋美, 大西寿, 藤倉敏夫, "自動マルチウェルリーダーを用いた酵素活性の高感度レートアッセイ法 - 多形核白血球ミエロパーオキシダーゼをモデルとして", 医学のあゆみ, 1984, 131, 163.
- F. H. Pujol, I. Rodriguez, M. Devesa, R. Rangel-Aldao and F. Liprandi, "A Double Sandwich Monoclonal Enzyme Immunoassay for Detection of Hepatitis B Surface Antigen", *J. Immunol.*, 1993, 14, 21.
- F. B. Serrat, "Colorimetric Method for Determination of Chlorine with 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine", *Talanta*, 1994, 41, 2091.

TMBZ·HCl

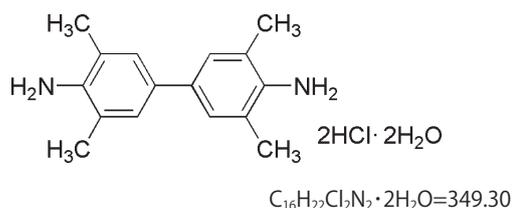
3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, dihydrochloride, dihydrate
[CAS No. 64285-73-0]

同仁品コード：T039

1 g ¥13,400 340-06491

- 規格** (1) 性状：白色～微桃色結晶性粉末
(2) 純度 (滴定)：98.0% 以上
(3) 水溶状：試験適合
(4) pH(25℃)：2.0～2.5
(5) 水分：8.0～12.0%
(6) IR スペクトル：試験適合
- 溶解例** 200 mg/20 ml(水)
- 取扱注意** 1. 保存方法：遮光

構造式



性質 TMBZ の塩酸塩で、水にはよく溶けるが、有機溶媒には溶けない。吸湿性があるので、遮光密栓して保存する。

最新の情報は web へ 同仁化学 T022/T039 で検索