

## ミトコンドリアを染色したい

### 使用製品

MitoBright Green	[MT06]
MitoBright Red	[MT07]
MitoBright Deep Red	[MT08]
-Cellstain <sup>®</sup> - MitoRed	[R237]
-Cellstain <sup>®</sup> - Rh123	[R233]

### 解析装置



### I はじめに

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、酸化的リン酸化による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。

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 <sup>®</sup> 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	○	○	×	○
-Cellstain- MitoRed	560 nm	580 nm	○	×	×	○
-Cellstain- Rh123	507 nm	529 nm	○	×	×	○

※ PFA：パラホルムアルデヒド

### II MitoBright シリーズを用いたミトコンドリア染色

製品以外に必要なもの

- Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) または無血清培地
- マイクロピペット

#### (1) 染色溶液の調製

50 μg の試薬を含むチューブへ下記表に示す量の DMSO を加えピPETTINGにより溶解し 1 mmol/l DMSO stock solution を調製する。溶解後は -20°C で保存する。

試薬	添加する DMSO 量
MitoBright Green	87 μl
MitoBright Red	71 μl
MitoBright Deep Red	69 μl

※試薬毎に添加する DMSO の量が異なるので注意してください。

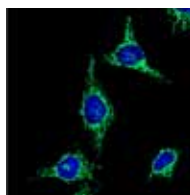
#### (2) 染色操作

- 1) 調製した 1 mmol/l DMSO stock solution を HBSS または無血清培地で希釈し、25~200 nmol/l working solution を調製する。
- 2) 予め培養した細胞の上清を除去し、HBSS または無血清培地で 2 回洗浄する。
- 3) 1) で調製した 25~200 nmol/l working solution を添加し、37°C で 15~60 分間インキュベートする。
- 4) 上澄みを除去後、HBSS または無血清培地に置換し、蛍光顕微鏡にて観察する。

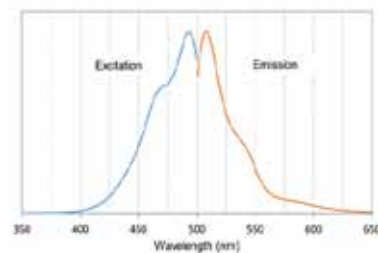
#### (3) 染色例

各 MitoBright 染色試薬による HeLa 細胞のミトコンドリアおよび Hoechst33342 を用いた核 (青) の染色像

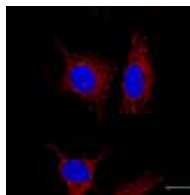
##### MitoBright Green



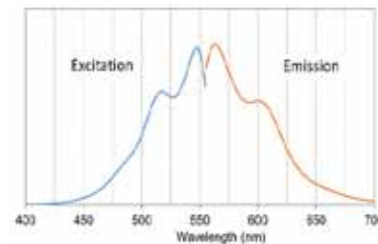
色素濃度：100 nmol/l (緑)  
励起波長：488 nm  
蛍光波長：501-563 nm



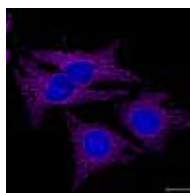
##### MitoBright Red



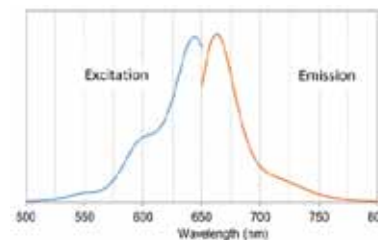
色素濃度：100 nmol/l (赤)  
励起波長：561 nm  
蛍光波長：558-617 nm



##### MitoBright Deep Red



色素濃度：100 nmol/l (緑)  
励起波長：640 nm  
蛍光波長：656-700 nm



### FAQ

- Q：染色後の蛍光が弱い場合、改善する点はありますか？  
A：working solution 添加後のインキュベート時間を長くしてください。もしくは working solution の濃度を濃くしてください。
- Q：細胞の固定化は可能ですか？  
A：染色前の固定化はできませんが、染色後であれば固定化は可能です。4% PFA (パラホルムアルデヒド) での固定化実績はございます。

### III MitoRed または Rh123 を用いた生細胞中のミトコンドリア染色

製品以外に必要なもの

- Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- HBSS、PBS または無血清培地
- マイクロピペット

(1) 1 mmol/l DMSO stock solution の調製

- ・ MitoRed 50µg を DMSO 78 µl で溶解する。
- ・ Rh123 1 mg を DMSO 2.626 ml に溶解する。

(2) 染色操作

- 1) 1 mmol/l ストック溶液を、最終濃度が 20-200 nmol/l になるよう無血清培地、PBS、HBSS 等を用いて希釈し染色溶液を調製する。  
(細胞に加える前にあらかじめ37°Cに保温しておくが良い。)
- 2) チャンバースライドに適当な細胞密度になるように細胞を培養する (  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  cells/ml )。
- 3) 培地を除き、軽く洗浄する。(無血清培地、PBS、HBSS 等を使用する)
- 4) ウェルに染色溶液を加え、培養条件下で 30 分～1 時間インキュベートする。
- 5) 染色溶液を除き、新しい培地またはバッファーを加える。
- 6) 蛍光顕微鏡で観察する。  
MitoRed 励起 : 560 nm、蛍光 : 580 nm  
Rh123 励起 : 507 nm、蛍光 : 529 nm

#### FAQ

Q : 細胞の固定化は可能ですか？

A : 染色前後に関わらず固定化した細胞は使用できません。染色後に固定化される場合は MitoBright をご使用いただけます。

最新の測定データやアプリケーション、論文情報を小社 HP にて掲載。ご興味のある方は、小社 HP にて最新情報をご確認下さい。

MitoBright 同仁

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
ミトコンドリア
関連試薬
細菌研究用
試薬
膜タンパク質
可溶化剤
ラベル
化剤
二価性
試薬
イオン
電極
その他
機能性
有機材料