

ProLong[®] Gold / ProLong[®] Diamond 褪色防止用封入剤 SlowFade[®] Gold / SlowFade[®] Diamond 褪色防止用封入剤

表1. 内容と保存方法

製品	数量	保存方法*
ProLong [®] Diamond 褪色防止用封入剤	5 × 2 mL (製品番号 P36961)	<ul style="list-style-type: none"> • 2~8°C • 遮光
ProLong [®] Diamond 褪色防止用封入剤 (DAPI 含有)	5 × 2 mL (製品番号 P36962)	
ProLong [®] Gold 褪色防止用封入剤	1 × 10 mL (製品番号 P36930)	<ul style="list-style-type: none"> • 室温 (15~30°C) • 遮光
	1 × 2 mL (製品番号 P10144)	
	5 × 2 mL (製品番号 P36934)	
ProLong [®] Gold 褪色防止用封入剤 (DAPI 含有)	1 × 10 mL (製品番号 P36931)	
	1 × 2 mL (製品番号 P36941)	
	5 × 2 mL (製品番号 P36935)	
SlowFade [®] Diamond 褪色防止用封入剤	5 × 2 mL (製品番号 S36963)	<ul style="list-style-type: none"> • 2~8°C • 遮光
SlowFade [®] Diamond 褪色防止用封入剤 (DAPI 含有)	5 × 2 mL (製品番号 S36964)	
SlowFade [®] Gold 褪色防止用封入剤	1 × 10 mL (製品番号 S36936)	<ul style="list-style-type: none"> • 室温 (15~30°C) • 遮光
	1 × 2 mL (製品番号 S36940)	
	5 × 2 mL (製品番号 S36937)	
SlowFade [®] Gold 褪色防止用封入剤 (DAPI 含有)	1 × 10 mL (製品番号 S36938)	
	1 × 2 mL (製品番号 S36942)	
	5 × 2 mL (製品番号 S36939)	

* これらの製品は -20°C 以下で保存することもできます。指示通りの条件で保存された製品は、最低 6 か月間安定した状態を保ちます。

はじめに

ライフテクノロジーズは、硬化性 / 非硬化性の封入アプリケーション向けに、混合済みの即時使用可能な幅広い褪色防止用封入剤を提供しています。

硬化性の ProLong® Diamond / ProLong® Gold 褪色防止用封入剤は、硬化後に最高 1.46 の屈折率を示し、スライドの長期保存が可能です。また非硬化性の SlowFade® Diamond / SlowFade® Gold 褪色防止用封入剤は、20°C で 1.42 の屈折率を示し、封入後ただちにサンプルを観察できます。

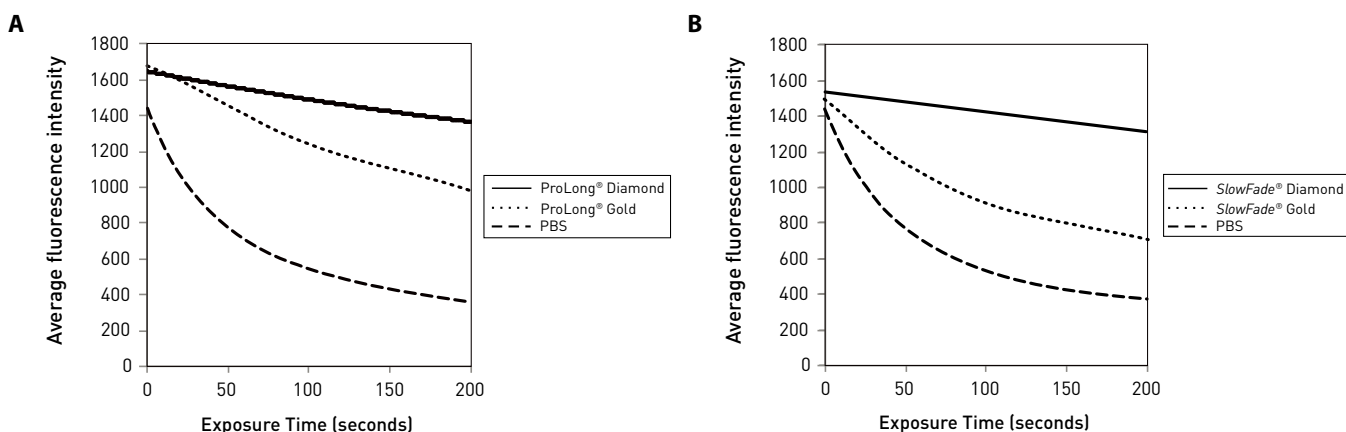
ProLong® Diamond は、封入後に蛍光シグナルのクエンチングがほとんど発生せず、Alexa Fluor® 色素や既存の色素 (FITC、TRITC)、蛍光タンパク質 (GFP、mCherry) の褪色防止に最適です (6 ページ、付録の表 2 参照)。一方 ProLong® Gold は、Alexa Fluor® 色素に対して同等の褪色防止効果を示し、室温で簡単に保存できます。

SlowFade® Diamond は、封入後ただちにサンプルを観察できる非硬化性の褪色防止剤です。蛍光シグナルのクエンチングがほとんど発生せず、Alexa Fluor® 色素や既存の色素 (FITC、TRITC)、蛍光タンパク質 (GFP、mCherry) の褪色防止に最適です (6 ページ、付録の表 2 参照)。一方 SlowFade® Gold は、Alexa Fluor® 色素に対して同等の褪色防止効果を示し、室温で簡単に保存できます。

スライドをいったん保存し、後で使用する場合は、蛍光シグナルをサンプルの条件に応じて数週間または数か月間保存できる ProLong® Diamond または ProLong® Gold の使用を推奨します。SlowFade® Diamond / SlowFade® Gold は、スライドの短期保存 (2 ~ 3 週間) のみを想定しています。SlowFade® で封入したサンプルの蛍光シグナルは、徐々に減弱する可能性があります。

ProLong® と SlowFade® は、どちらも核対比染色の手順を省略できるよう、封入剤に DAPI を含有した製品もお選びいただけます。

図 1. PProLong® Diamond (パネル A) と SlowFade® Diamond (パネル B) は、強い光褪色防止効果を示しています。HeLa 細胞をフルオレセイン (FITC) ファロイジン F アクチンプローブ (ライフテクノロジーズ、製品番号 F432) で標識し、PBS または各種封入剤で封入しました。サンプルを 100 ワットの水銀アークランプで 3 分間照射し、20× 対物レンズを用いて 12-bit のモノクロ カメラで画像収集しました。データのプロットは、3 つの視野から収集した蛍光強度の平均値の経時変化を示しています。



ご使用の前に

ProLong® 褪色防止用封入剤の重要な注意点

ProLong® Gold / ProLong® Diamond を使用する際は、本書の指示に従ってください。本製品を使用する際の重要な注意点は次の通りです。

- 必要に応じて、使用前に ProLong® Gold / ProLong® Diamond のボトルを室温に戻してください。
- ProLong® Gold / ProLong® Diamond を加える前に、スライドまたはカバースリップの側面を清浄なペーパータオルの上で軽く叩いて、余分な水分を取り除いてください。
- ProLong® Gold / ProLong® Diamond を加えた後は、次の手順でサンプルを硬化させてください。
 - 封入サンプルを乾燥した平面に置きます。
 - 室温の暗中で 24 時間インキュベートします。

硬化前のサンプルを短時間観察する場合

硬化前のサンプルを短時間観察するには、カバースリップの角をエポキシ樹脂または VALAP で留めてください。サンプルは観察後、乾燥した平面に置き、室温の暗中で 24 時間硬化させます。

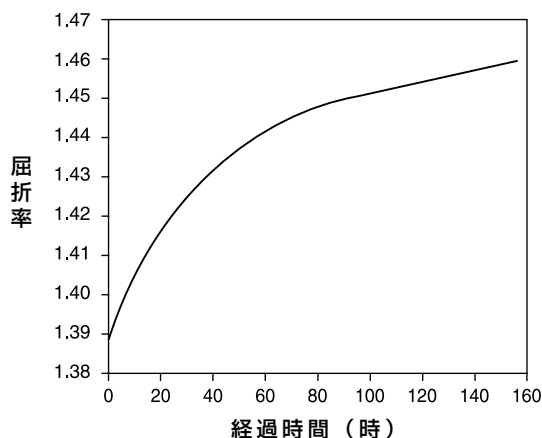
サンプルを長期保存する場合

硬化が終了した後、カバースリップの縁を完全にエポキシ樹脂または VALAP で密閉し、室温または 4°C、もしくは $\leq -20^{\circ}\text{C}$ で保存します。カバースリップの縁を密閉することでサンプルが酸化しにくくなり、数か月間寿命を延ばすことができます。マニキュアを用いて密閉する場合、マニキュアの成分によっては蛍光シグナルに影響を及ぼすなどの問題があることがありますので、注意してご使用ください。

ProLong® Gold / ProLong® Diamond 褪色防止用封入剤の技術仕様

- pH 7.4 (20°C)
- 屈折率は硬化に伴い徐々に上昇 (図 2 参照)
- 硬化させた状態で最適の性能を発揮し、長期保存 (カバースリップの縁を密閉すると数か月間) が可能

図 2. ProLong® Gold / ProLong® Diamond の硬化にともなう屈折率の上昇



SlowFade® 褪色防止用封入剤の重要な注意点

SlowFade® Gold / SlowFade® Diamond を使用する際は、本書の指示に従ってください。本製品を使用する際の重要な注意点は次の通りです。

- 必要に応じて、使用前に SlowFade® Gold / SlowFade® Diamond のボトルを室温に戻してください。
- SlowFade® Gold / SlowFade® Diamond を加える前に、スライドまたはカバースリップの側面を清浄なペーパータオルの上で軽く叩いて、余分な水分を取り除いてください。

サンプルを観察する場合

カバースリップの角をエポキシ樹脂または VALAP で留め、観察します。SlowFade® Gold / SlowFade® Diamond は、短期保存（2～3週間）を想定しています。SlowFade® で封入したサンプルの蛍光シグナルは、徐々に減弱する可能性があります。

SlowFade® Gold / SlowFade® Diamond 褪色防止用封入剤の技術仕様

- pH 7.4 (20°C)
- 屈折率 1.42 (20°C)

実験プロトコール

封入サンプル作製プロトコール

ProLong® Gold / ProLong® Diamond、SlowFade® Gold / SlowFade® Diamond は、大半の固定サンプルの封入に最適の即時使用可能な褪色防止用封入剤です。ただしこれらの封入剤にはグリセロールが含まれているため、Dil などの脂溶性細胞膜染色剤を含むサンプルの封入には適さない可能性があります。

- 1.1 **必要に応じて封入剤を室温に戻します。** 封入剤のバイアルを室温に戻します。外部熱源を使用したバイアルの加熱は、封入剤の長期安定性を損なう恐れがありますので避けてください。
- 1.2 **封入剤を添加します。** スライドまたはカバースリップの側面を清浄なペーパータオルの上で軽く叩いてサンプルの余分な水分を取り除き、封入剤をサンプルに一滴（または適当量）加えます。スライド上のサンプルをカバースリップで覆います。カバースリップ上に置かれたサンプルの場合は、封入剤を清浄なスライドに一滴加え、その上に気泡が発生しないよう慎重にカバースリップを置きます。
- 1.3 **観察のためにスライドを調製します。** ProLong® Gold / ProLong® Diamond で封入したサンプルは、平面に置き、暗中で硬化させます。硬化時間は、サンプルの厚みと周囲の相対湿度によって数時間から一晩まで異なります。そのため、硬化時間を 24 時間設けるよう推奨します。

長期保存する場合は、封入剤が過度に収縮してサンプルが変形しないよう、硬化後カバースリップの縁とスライドの間を密閉します。密閉後、スライドを蓋付きのスライドボックスにまっすぐに収納し、室温または 4°C、もしくは $\leq -20^{\circ}\text{C}$ で保存します。スライドが乾燥状態を保つよう、乾燥剤をボックスに入れることもできます。

また、封入後ただちにサンプルを観察する場合は、カバースリップがずれないように角を VALAP またはエポキシ樹脂で留めます。サンプルの硬化を妨げないよう、カバースリップの四辺は留めないでください。

SlowFade[®] Gold / *SlowFade*[®] Diamond で封入したサンプルは、封入後ただちに観察できます。厚みのあるサンプルは、封入剤が完全に浸透するまでに時間がかかる場合もあります。必要に応じて、カバースリップがずれないように角を VALAP またはエポキシ樹脂で留めます。

封入したカバースリップの除去

追加染色のために封入したカバースリップを取り外す必要がある場合は、37°C のリン酸緩衝食塩水（PBS または同等の生理食塩緩衝液）の入ったコプリンジャーに封入したスライドをセットし、ゆっくりと攪拌してください。

封入剤が徐々に緩衝液に溶け出し、30 分程度でカバースリップがスライドから外れます。カバースリップ上で培養したサンプルの場合は、取り外したカバースリップのどちらの面にサンプルが付着しているかを確認してください。ProLong[®] Gold / ProLong[®] Diamond は、硬化の状態によってカバースリップが外れるまでに時間がかかる可能性があります。*SlowFade*[®] Gold / *SlowFade*[®] Diamond を使用している場合は、スライドに添加した樹脂などのシーリング剤を取り除いてからコプリンジャーにセットしてください。カバースリップが外れたら、サンプルを PBS でよく洗浄した後、残りの封入剤を除去します。

蛍光顕微鏡による画像収集

封入剤が乾燥する前にサンプルを蛍光顕微鏡で観察することができます。しかし ProLong[®] Diamond / *SlowFade*[®] Diamond の褪色防止効果は、サンプルと接触している時間が長くなるほど僅かずつ向上します。特に ProLong[®] Diamond は、ひとたび硬化すると最大の褪色防止効果を発揮します。ProLong[®] Diamond / *SlowFade*[®] Diamond で処理したサンプルは、保存方法が適切であれば封入後長期にわたってフォトブリーチング防止効果を示します。

フォトブリーチングをさらに防止するには、蛍光標識したサンプルがなるべく光に曝露しないよう ND フィルターを使用し、観察やシグナル収集の際にのみ曝露するようにします。また光学系の使用を最小限に抑え、高開口数対物レンズや低い倍率、高品質光学フィルター、高感度フィルム、高性能検出器などを用いて画像の収集を最適化してください。

付録

表 2. ProLong® Diamond、ProLong® Gold、SlowFade® Diamond、SlowFade® Gold の各褪色防止用封入剤で処理した蛍光色素の光褪色防止効果 *

Dye	ProLong® Diamond	ProLong® Gold	SlowFade® Diamond	SlowFade® Gold
Alexa Fluor® 488	95%	84%	98%	84%
Alexa Fluor® 546	100%	100%	100%	100%
Alexa Fluor® 555	95%	93%	94%	92%
Alexa Fluor® 568	90%	71%	94%	80%
Alexa Fluor® 594	99%	96%	99%	94%
Alexa Fluor® 647	93%	98%	95%	90%
BODIPY® FL	98%	72%	98%	87%
Cy®3	83%	79%	84%	77%
Cy®5	100%	100%	96%	100%
DAPI	92%	89%	92%	93%
EmGFP	94%	37%	94%	52%
FITC	90%	84%	93%	85%
Hoechst	97%	95%	100%	97%
mCherry	72%	63%	72%	71%
TagRFP	72%	31%	93%	45%
TO-PRO®	87%	90%	98%	78%
TRITC	82%	76%	95%	77%
Texas Red®	92%	93%	96%	92%

* 初期蛍光強度に対する割合で表示しました。光褪色防止効果は、Zeiss LSM 710 共焦点顕微鏡で定量しました。HeLa 細胞または U2OS 細胞を標準的な免疫組織染色 (ICC) プロトコールで染色し、封入しました。その後、3 視野の 5 領域を 15 倍でスキャンしました。ピクセルあたりの dwell time は、1.58 μ s でした。励起波長と強度は、蛍光色素ごとに最適化しました。

製品リスト

価格についてはライフテクノロジーズのウェブサイトをご覧ください、またはカスタマーサービス部門にお問い合わせください。

Cat. no.	Product Name	Unit Size
P36961	ProLong® Diamond Antifade Mountant	5 × 2 mL
P36962	ProLong® Diamond Antifade Mountant with DAPI	5 × 2 mL
S36963	SlowFade® Diamond Antifade Mountant	5 × 2 mL
S36964	SlowFade® Diamond Antifade Mountant with DAPI	5 × 2 mL
P10144	ProLong® Gold antifade reagent	2 mL
P36930	ProLong® Gold antifade reagent	10 mL
P36934	ProLong® Gold antifade reagent *special packaging*	5 × 2 mL
P36941	ProLong® Gold antifade reagent with DAPI	2 mL
P36931	ProLong® Gold antifade reagent with DAPI	10 mL
P36935	ProLong® Gold antifade reagent with DAPI *special packaging*	5 × 2 mL
S36940	SlowFade® Gold antifade reagent	2 mL
S36936	SlowFade® Gold antifade reagent	10 mL
S36937	SlowFade® Gold antifade reagent *special packaging*	5 × 2 mL
S36942	SlowFade® Gold antifade reagent with DAPI	2 mL
S36938	SlowFade® Gold antifade reagent with DAPI	10 mL
S36939	SlowFade® Gold antifade reagent with DAPI *special packaging*	5 × 2 mL

ご購入の前に

高品質の ProLong® Diamond / ProLong® Gold / SlowFade® Diamond / SlowFade® Gold 褪色防止用封入剤は、技術的な資格を持ち、危険性の高い化学物質の取り扱い経験が豊富な個人が使用するか、またはこれらの個人の直接監督下で使用してください。各製品に添付されている安全性データシート (SDS) をよく読んでください。また、他の法規制が適用される可能性があります。

サポートについて

すべての地域における最新のサービスおよびサポート情報を入手するには、www.lifetechnologies.com にアクセスしてください。

上記の Web サイトでは、次のことが可能です。

- 世界各地のテクニカルサービスおよびサポート部門の連絡先電話番号やファックス番号の入手
- よくある質問 (FAQ) の検索
- テクニカルサポート (techsupport@lifetech.com) へ質問の直接送信
- ユーザーマニュアル、SDS、ベクターのマップと配列、アプリケーションノート、組成、ハンドブック、分析証明書、参考文献およびその他の製品関連資料の検索
- 顧客トレーニングに関する情報の入手
- ソフトウェアアップデートおよびパッチのダウンロード

SDS

安全性データシート (SDS) は、www.lifetechnologies.com/sds からダウンロードできます。

分析証明書

分析証明書は、各製品の詳しい品質管理および品質評価に関する情報を提供するものです。分析証明書は、ライフテクノロジーズのウェブサイトでご覧いただけます。www.lifetechnologies.com/support にアクセスし、製品のパッケージ (チューブ、袋、箱など) に印刷されているロット番号で分析証明書を検索してください。

限定製品保証

Life Technologies Corporation およびそのグループ会社は、ライフテクノロジーズのウェブサイト www.lifetechnologies.com/termsandconditions の一般販売条件に記載した通り、製品を保証します。ご不明の点がございましたら、www.lifetechnologies.com/support からライフテクノロジーズにお問い合わせください。

Disclaimer

LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION AND/OR ITS AFFILIATE(S) DISCLAIM ALL WARRANTIES WITH RESPECT TO THIS DOCUMENT, EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO THOSE OF MERCHANTABILITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, OR NON-INFRINGEMENT. TO THE EXTENT ALLOWED BY LAW, IN NO EVENT SHALL LIFE TECHNOLOGIES AND/OR ITS AFFILIATE(S) BE LIABLE, WHETHER IN CONTRACT, TORT, WARRANTY, OR UNDER ANY STATUTE OR ON ANY OTHER BASIS FOR SPECIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, PUNITIVE, MULTIPLE OR CONSEQUENTIAL DAMAGES IN CONNECTION WITH OR ARISING FROM THIS DOCUMENT, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO THE USE THEREOF.

Important Licensing Information

These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses. By use of these products, you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries, unless otherwise specified. Cy is a registered trademark of GE Healthcare UK Limited. Zeiss is a registered trademark of Carl Zeiss AG.

©2014 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

13 May 2014

 life
technologies

A Thermo Fisher Scientific Brand