

製品データ No. 143

MitoTracker® Orange CMTMRos と SYBR® Green I を用いたタバコ培養細胞のミトコンドリアとミトコンドリア核様体の生細胞二重染色

2004 年 8 月

データの提供：東京大学大学院農学生命科学研究科

有村 慎一 先生、堤 伸浩 先生

1. 実験概要

タバコ懸濁培養細胞 BY-2 のミトコンドリアとミトコンドリア核様体 (DNA) を MitoTracker® Orange CMTMRos と SYBR® Green I を用いて生きたまま二重染色し共焦点レーザー顕微鏡で観察記録した。

2. 実験方法

1. BY-2 細胞へ、培養液中 1/2,000 となるように SYBR® Green I を投入し、130 rpm, 27°C で 30 分間振とう培養。
2. 培養後細胞懸濁液に、さらに MitoTracker® Orange CMTMRos を終濃度 0.5 µM になるように投入し、さらに 10 分間培養。(MitoTracker® は 50 µg ずつになった special package を用いて、あらかじめ DMSO 127.25 µl に溶解して 1 mM にしたものを用意しておき、これを細胞懸濁液に 1/2,000 容量投入した。)
3. 3 回新しい細胞培養液で洗浄。
4. スライドガラス上、もしくはボトムガラスディッシュ上で蛍光顕微鏡観察。(Nikon Eclipse 600)
5. 共焦点レーザー顕微鏡でイメージングした (Bio-Rad (現カールツァイス) µラディアンス)。SYBR® Green I は励起波長 488 nm ArLaser, 検出には 500-530 nm フィルター, MitoTracker® Orange には励起波長 543 nm HeNe Laser, 検出には LP 570 nm フィルターを使用した。

注意点 1: MitoTracker® は生細胞内で長時間観察するとミトコンドリア以外にも徐々に染色されてしまうので、一回の染色による観察は 30 分以内にとどめた方がよい。

注意点 2: SYBR® Green I による生細胞染色では、なぜかミトコンドリア DNA が一番よく染まる。核の DNA はさらに長時間の染色、もしくは固定をすることによって可視化できる。

注意点 3: 長期間 (数日間) SYBR® Green I 染色を行い続けると細胞増殖の阻害が起る。

3. 結果

BY-2 細胞内のミトコンドリアとミトコンドリア核様体の様子を同時に感度よく生きたまま観察することに成功した。

4. 考察

この二種の蛍光色素の組み合わせは、蛍光同士の波長のかぶりが無く、同時スキャンでも問題なく検出できた。また、励起波長も一般的な 488 nm レーザーと 543 nm レーザーを使用しているのも、各施設において導入しやすい蛍光色素の組み合わせであると思われる。

参考文献 :Arimura, S. *et al.* (2004) PNAS 101 :7805 -7808

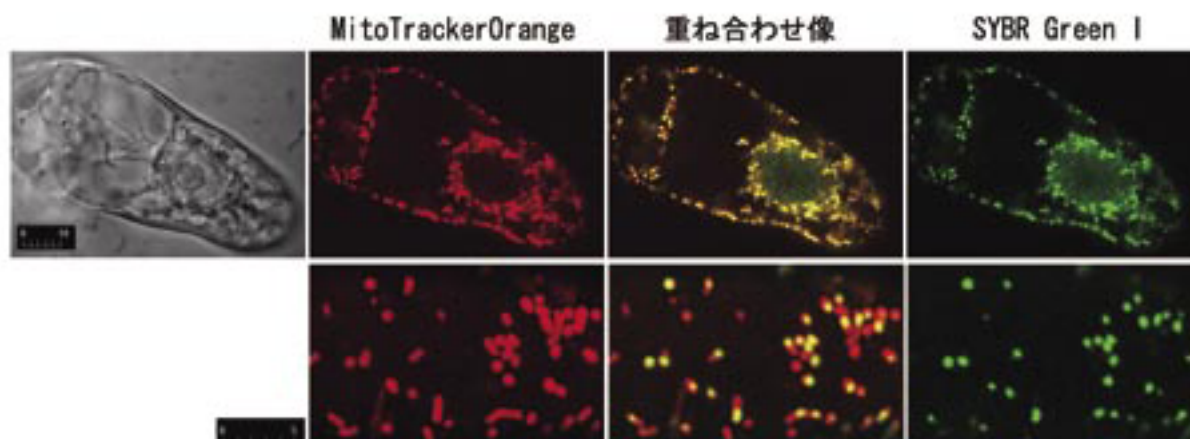


図 1. MitoTracker® Orange CMTMRos(赤)と SYBR® Green I(緑)を用いたタバコ培養細胞 BY-2 の共焦点顕微鏡画像。上図：細胞像、下図：ミトコンドリア拡大像

製品情報

製品名	製品番号	サイズ
MitoTracker® Orange CMTMRos	M-7510	20x50 µg
SYBR® Green I nucleic acid gel stain * 10,000 X concentrate in DMSO*	S-7585	20x50 µl

価格については、ウェブをご覧ください。

研究用에만使用できます。診断目的およびその手続き上での使用は出来ません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 www.lifetechnologies.com/TC

The trademarks mentioned herein are the property of Life Technologies Corporation or their respective owners.

© 2012, Life Technologies Japan Ltd. All rights reserved. Printed in Japan.

ライフテクノロジーズジャパン株式会社

本社：〒108-0023 東京都港区芝浦 4-2-8

TEL.03 (6832) 9300 FAX.03 (6832) 9580

www.lifetechnologies.com

大阪：〒564-0052 大阪府吹田市広芝町 10-28

TEL.06 (6339) 8165 FAX.06 (6339) 8138

