

## LipidDye® II <Lipid Droplets Live Imaging>

商品コード FDV-0027

※本商品は研究用です。研究以外には使用できません。

### 商品背景

脂肪滴 (Lipid droplet) は特有のリン脂質単層膜を持ち、トリグリセリドやステロールエステルといった中性脂質を貯蔵するオルガネラです (図 1 左)。脂肪滴は歴史的には脂肪組織で発見され、エネルギー貯蔵または脂質のターンオーバーに関わる場所として考えられています。さらに、近年の研究から脂肪滴は脂肪細胞だけではなく、酵母から哺乳類に至る細胞見つっています。脂肪滴の数、サイズ、組成は細胞種によって異なり、同一の細胞内でも差があることが知られています。例えば、脂肪細胞は通常大きな脂肪滴構造 (>10  $\mu\text{m}$ ) を持ち、光学顕微鏡で観察可能です。一方で、非脂肪細胞は脂肪細胞と比較して大幅に小さい脂肪滴構造を持つのが一般的です (図 1 右)。脂肪滴は小胞体 (ER) から形成された後、細胞質に輸送され、脂肪滴同士の融合または新規合成された中性脂質の取り込みによって拡大します。脂肪滴は小胞体、ミトコンドリア、リソソーム、核を含む様々なオルガネラと接触し、細胞内でダイナミックに動くことが注目されています。生細胞内における脂肪滴のダイナミックな動きを観察し、その生理学的な機能を研究するためには、長時間のライブセルイメージングに適した脂肪滴特異的な染色色素が必要です。

Nile Red など既存の脂肪滴染色蛍光色素は、脂肪滴の生物学的機能を解明するのに貢献してきましたが、感度と選択性が不十分でした。既存の色素では非脂肪細胞でしばしば見られる微小な脂肪滴を生細胞で検出することは困難であり、その用途は脂肪細胞または過剰な脂質で処理された細胞内に見られる比較的大きな脂肪滴の検出に限られていました。当社では脂肪滴に対して高い感度と選択性を示し、およそ 1  $\mu\text{m}$  サイズの脂肪滴を検出できる緑色蛍光色素 LipidDye® (商品コード : FDV-0010) を販売しています。LipidDye® は非脂肪細胞において微小な脂肪滴を観察する強力なツールですが、405 nm レーザーによる励起が必要で、光安定性が十分でないために、長時間のライブセルイメージングによって脂肪滴のダイナミックな合成、移動、分解を観察するのには不向きでした。この点で、LipidDye® の改良版である LipidDye® II はより毒性の少ない 450-480 nm の光で励起可能かつ極めて高い光安定性を示します。LipidDye® II は短時間間隔での複数回の励起を伴う Z-stack タイムラプスイメージングを含むライブセルイメージングに非常に適しています。例えば、LipidDye® II は 3,000 回の画像取得を伴う 12 時間にわたる、薬剤誘導性の脂肪滴分解過程の長時間イメージングに用いられ、脂肪滴の脂肪分解と微小 (<1  $\mu\text{m}$ ) な脂肪滴の新生の可視化に成功しています。さらに、LipidDye® II は STED 超高解像度顕微鏡法にも適用可能で、HeLa 細胞において 500 nm 未満の脂肪滴の検出が可能です。

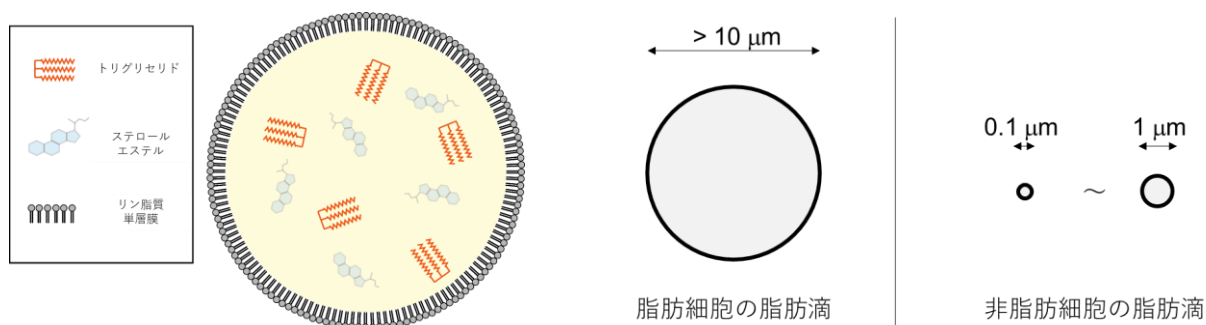


図 1. 脂肪滴の模式図

左：脂肪滴の構造イメージと主要成分 右：脂肪細胞と非脂肪細胞における脂肪滴の典型的なサイズ

## 商品情報

商品コード: FDV-0027

包装サイズ: 0.1 mg

分子式:  $C_{26}H_{17}NO_2S_2$

分子量: 439.5 g/mol

溶解性: DMSO に可溶

蛍光特性: Ex. 400-500 nm (最大励起波長 ~420 nm)

青色励起レーザー(ex. 405, 445, 458, 473 and 488 nm\* レーザーなど)、市販の FITC または GFP フィルターと組み合わせたキセノンランプまたは LED に適合します。

\*注意 LipiDye® II は 488 nm レーザーで励起可能ですが、473 nm で励起する場合よりも蛍光強度は弱くなります。488 nm レーザーを用いる場合は、色素濃度などの観察条件を実験的に最適化して下さい。

Em. 450-650 nm (溶媒に依存)

脂肪滴に類似する大豆油中では最大蛍光波長は~510 nm です。おおよそ 490-550 nm の範囲を推奨します。

## 溶液調製と保存方法

溶解方法: 1 mM/100% DMSO を推奨

保存温度 (溶解前): 室温で保存

(溶解後): DMSO 溶液として調製後は子分注して-20℃で保管

凍結融解の繰り返しは避け、子分注品の使い切りを推奨

## 使用方法

### 生細胞イメージングの一般的なプロトコル

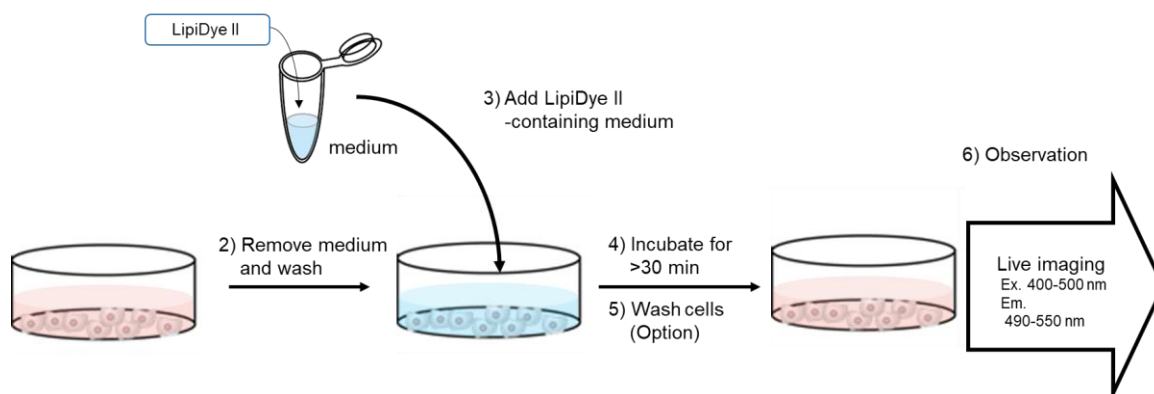
\*このプロトコルは培養細胞染色の一例です。

1. DMEM などの血清、フェノールレッドを含まない培地に LipiDye® II を 1  $\mu$ M になるよう溶解させる。  
注: LipiDye®II は FBS 存在化でも使用できますが、FBS および LipiDye®II の濃度は実験ごとに最適化してください。LipiDye®II の推奨濃度は~405 nm 励起の場合 0.1  $\mu$ M、~473 nm 励起の場合 1  $\mu$ M を目安に実験ごとに最適化してください。

2. 培養細胞の培地を取り除き、PBS で複数回細胞を洗浄
3. LipiDye® II 溶液を細胞に添加
4. 細胞を 37℃で 30 分以上インキュベート
5. 細胞を PBS または培地で洗浄し、新しい培地を加える (オプション)。

6. 生細胞条件下で各種蛍光顕微鏡により観察  
注: LipiDye® II の最適な染色濃度は細胞や実験によって異なります。各実験で最適化することを推奨しています。

1) Preparation of LipiDye II-containing medium



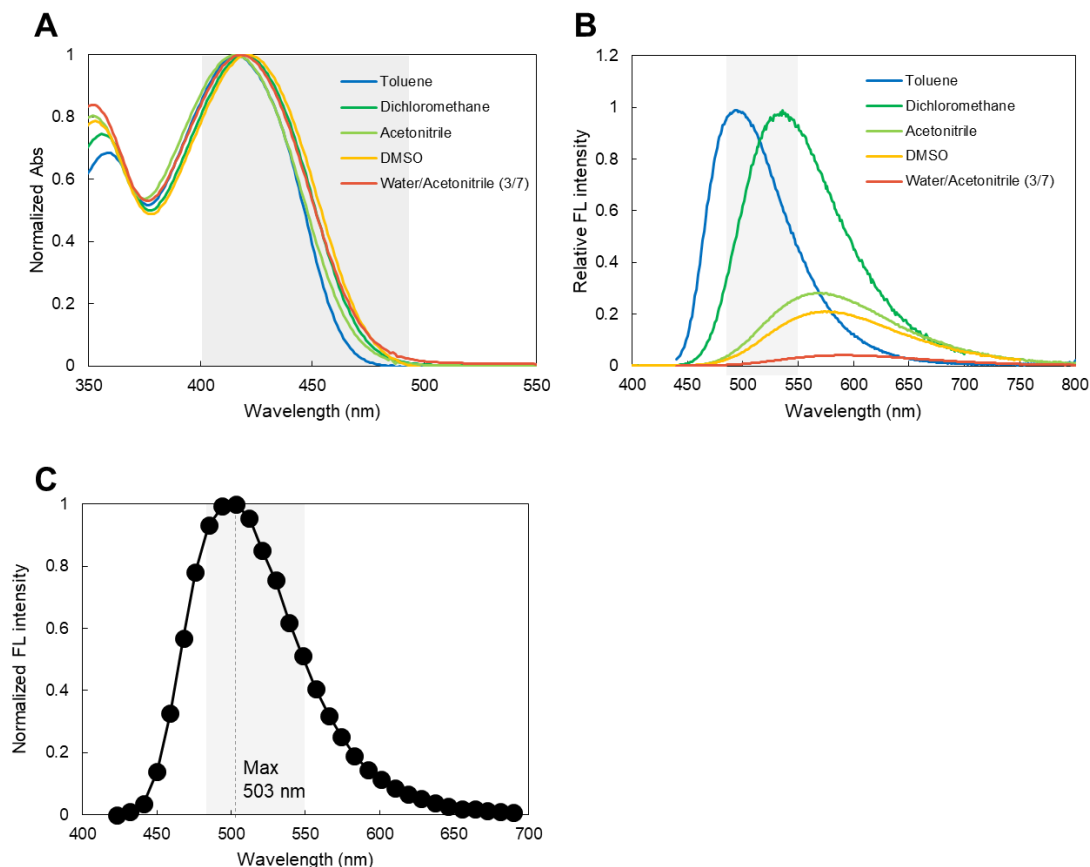
## 参考データ

### Lipidye® II のスペクトル

(A) 様々な溶媒中での吸収スペクトル。

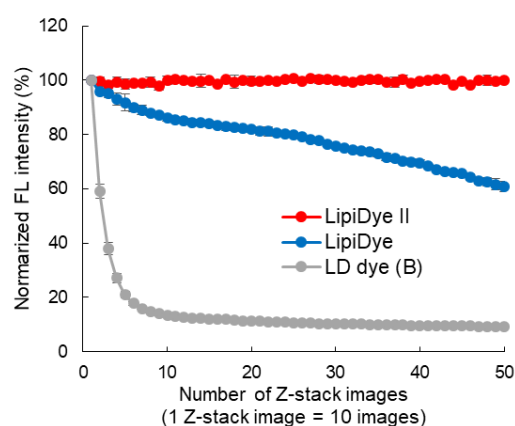
(B) 様々な溶媒中での蛍光スペクトル。Lipidye® II は溶媒環境応答性蛍光色素 (Solvatochromic dye) であり、溶媒によって異なるスペクトルを示す。極性の低い溶媒中 (トルエンおよびジクロロメタン) では高い量子収率で青色から緑色の蛍光を示す一方で、極性の高い溶媒中 (アセトニトリル、DMSO、水) では強度の弱い、赤色側にシフトした蛍光を示す。

(C) 蛍光顕微鏡で測定した、細胞内の脂肪滴における蛍光スペクトル。



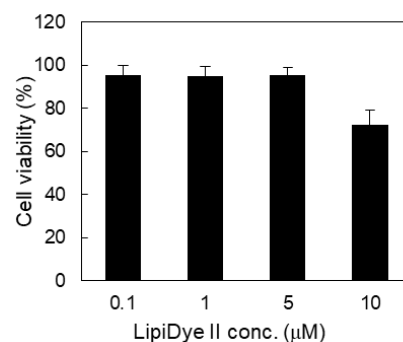
### 細胞中における Lipidye® II の光安定性

4%パラホルムアルデヒドで固定処理した 3T3-L1 脂肪細胞を、Lipidye® II とそのプロトタイプである Lipidye® および既存の蛍光色素 LD dye (B) で染色した。洗浄によりフリーの色素を除去した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて同一エリア内の脂肪細胞の Z-stack 画像 (1 回につき 2  $\mu$ m 間隔で計 10 枚取得) を繰り返し取得した (励起 473 nm/蛍光 490-540 nm)。蛍光の総計を測定し、標準化した蛍光強度を算出した。既存色素 B の蛍光強度は繰返しの光照射によって著しく減衰し、Lipidye® の蛍光強度も緩やかな減衰が見られた。一方で Lipidye® II の蛍光強度は 50 回の Z-stack 撮影 (合計 500 枚の画像取得) を行っても維持されていた。



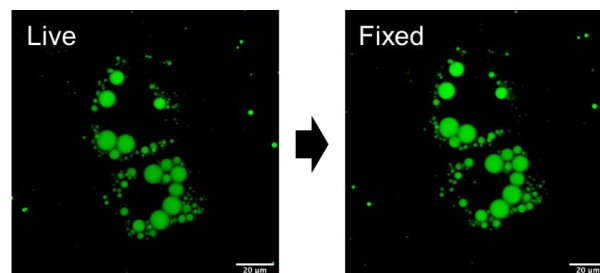
### LipidDye® II の細胞毒性

3T3-L1 脂肪細胞を様々な濃度の LipidDye® II で 24 時間処理した後、MTT アッセイによって細胞生存性を評価した。脂肪滴染色における LipidDye® II の推奨使用濃度は 0.1~1  $\mu\text{M}$  だが、少なくとも 5  $\mu\text{M}$  までは脂肪細胞に対して細胞毒性は見られなかった。



### 生細胞と PFA 固定後の蛍光強度比較

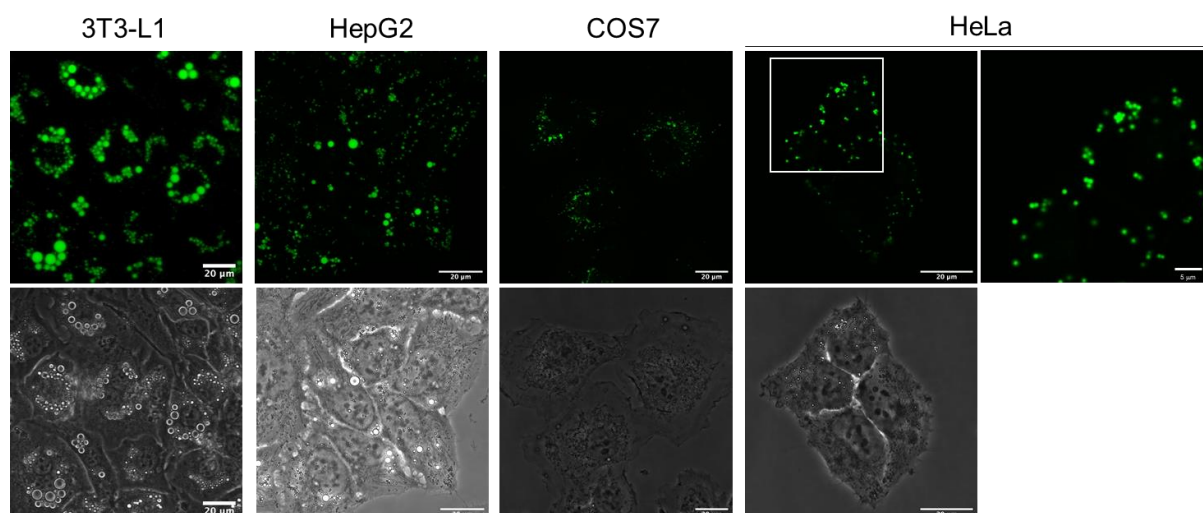
3T3-L1 脂肪細胞を LipidDye® II で染色し、生細胞の状態でも共焦点レーザー顕微鏡による観察（励起 473 nm/蛍光 490-540 nm）を行った（左）。その後 4%パラホルムアルデヒドで細胞を固定し、再度共焦点レーザー顕微鏡による観察を行った（右）。その結果、固定処理は LipidDye® II の蛍光強度にほとんど影響を及ぼさなかった。LipidDye® II は生細胞イメージング実験後の免疫細胞化学実験にも適合することがわかる。



## アプリケーションデータ

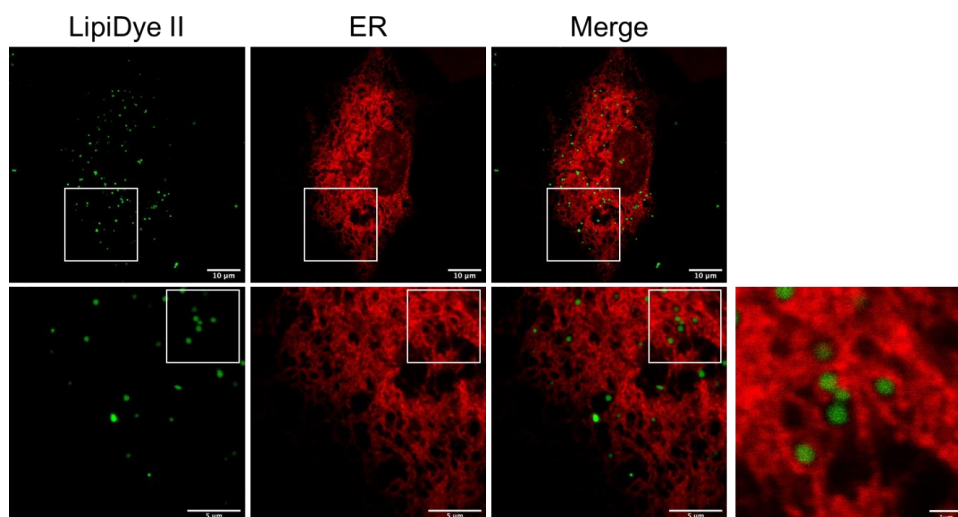
### 様々な細胞での染色実績

3T3-L1, HepG2, COS-7, HeLa 細胞を LipidDye® II (1  $\mu\text{M}$ ) で 12 時間染色し、共焦点レーザー顕微鏡（励起 473 nm/蛍光 490-540 nm）で観察を行った。HepG2 細胞は LipidDye® II で染色を行う 1 日前にパルミチン酸 (0.33 mM) /オレイン酸 (0.66 mM) で処理した。HeLa 細胞では 1  $\mu\text{m}$  以下の小さな脂肪滴が明瞭に観察できた。



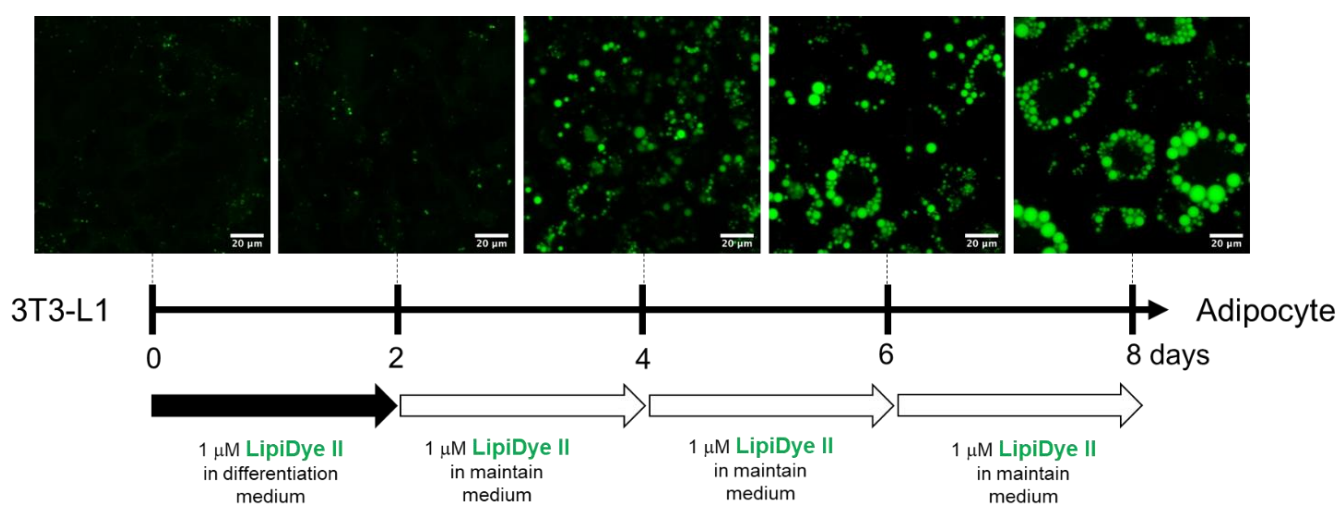
### 小胞体（ER）マーカーとのマルチカラーイメージング

小胞体（ER）局在性赤色蛍光タンパク質（mKO1）を発現させた COS-7 細胞を LipiDye® II（1  $\mu$ M）で 12 時間染色した。洗浄後、共焦点レーザー顕微鏡で蛍光観察（LipiDye® II：励起 473 nm／蛍光 490～540 nm, mKO1：励起 559 nm／蛍光 570～620 nm）したところ、1  $\mu$ m 未満の小さな脂肪滴が小胞体の網目構造の内側に観察された（スケールバー：20  $\mu$ m, 5  $\mu$ m, 1  $\mu$ m）。



### 脂肪細胞の分化・成熟過程の長時間観察

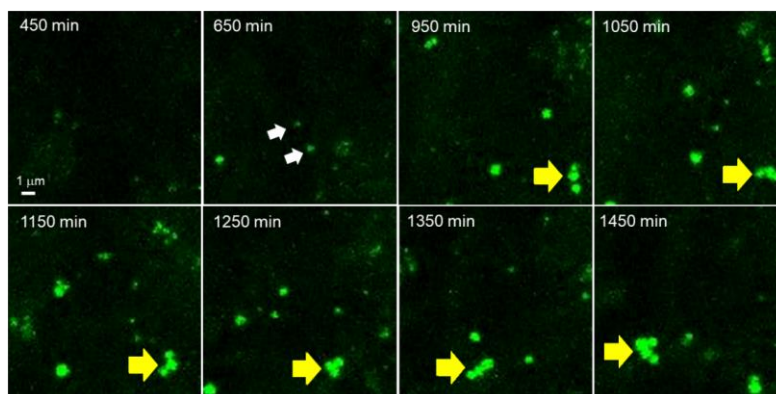
コンフルエントに達して 2 日経過した脂肪前駆細胞 3T3-L1 を LipiDye® II で 12 時間染色した。培地で洗浄した後、細胞を LipiDye® II（1  $\mu$ M）を含む分化培地中でインキュベートし、初回の画像（0 days）を共焦点レーザー顕微鏡（励起 473 nm/蛍光 490-540 nm）で取得した。分化 2 日後に培地を LipiDye® II（1  $\mu$ M）を含む維持培地に交換し、合計 8 日間蛍光観察した。画像取得中は LipiDye® II（1  $\mu$ M）を含む培地を 2 日おきに交換した（スケールバー：20  $\mu$ m）。





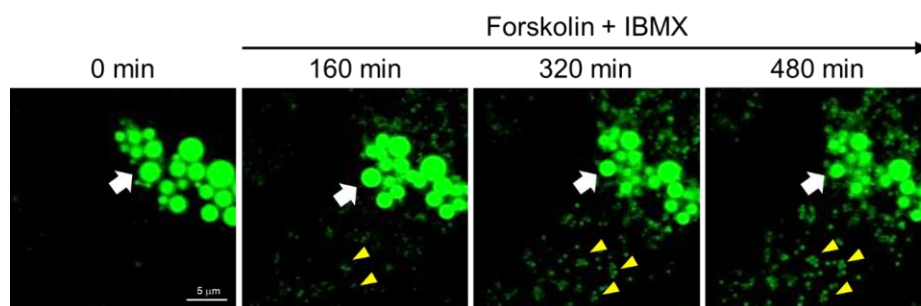
### 脂肪細胞分化過程のタイムラプス Z-stack イメージング

Lipidye® II (1  $\mu$ M) を含む分化培地で脂肪前駆細胞 3T3-L1 を培養し、共焦点レーザー顕微鏡（励起 473 nm/蛍光 490-540 nm）を用いてタイムラプス Z-stack イメージング（10 分毎の撮影、Z 軸画像 20 枚/回取得を 24 時間実施）を行った。分化誘導 10 時間程度経過した後、小さな脂肪滴が観察され（650 min、白矢印）、一部の脂肪滴が脂肪細胞分化過程で他の脂肪滴と結合する様子（1050-1450 min、黄矢印）が観察された（スケールバー：1  $\mu$ m）。



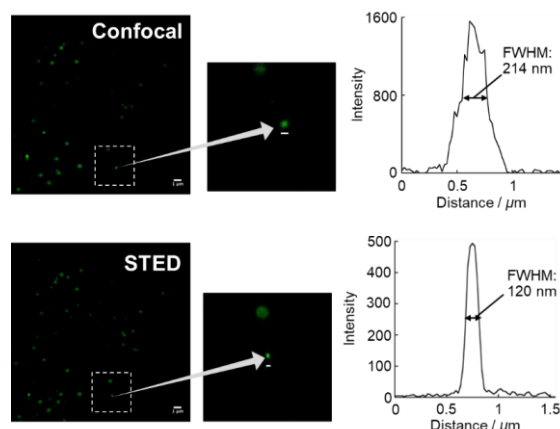
### 脂肪分解・新生のタイムラプス Z-stack イメージング

分化誘導した 3T3-L1 細胞を Lipidye® II (1  $\mu$ M) とインキュベートし、フリーの色素を除去するために培地で洗浄した。その後、アデニル酸シクラーゼ活性化物質である Forskolin (10  $\mu$ M) およびホスホジエステラーゼ阻害物質 IBMX (100 nM) で細胞を処理した。これらの薬剤は cAMP の細胞内濃度を増加させ、結果的にトリアシルグリセロールの加水分解を促進する。薬剤添加後すぐに共焦点レーザー顕微鏡（励起 473 nm/蛍光 490-540 nm）を用いてタイムラプス Z-stack イメージング（800 分間、4 分毎の撮影、Z 軸画像 15 枚/回で取得、計 3000 枚の画像）を行った。一部の大きな脂肪滴は薬剤処理によって明らかに縮小あるいは消失した（白色矢印）。また、薬剤処理 2 時間後に無数の小さな脂肪滴が生成している様子が観察された（黄色矢印）。（スケールバー：5  $\mu$ m）



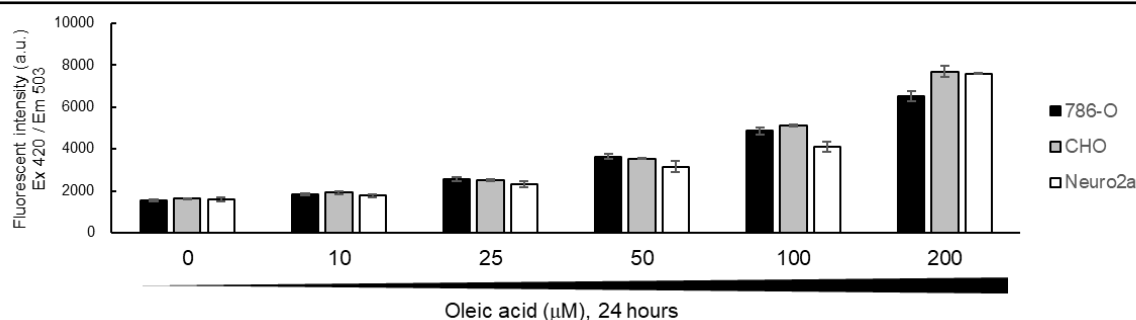
### STED 超高解像度顕微鏡による生細胞イメージング

HeLa 細胞を LipiDye® II (1  $\mu$ M) で処理し洗浄した後、培地中で培養した。細胞を共焦点レーザー顕微鏡（励起 473 nm/蛍光 490-540 nm）と STED 超高解像度顕微鏡で観察した（励起 473 nm+STED 660 nm/蛍光 500~640 nm）。STED イメージングによって、共焦点顕微鏡では明瞭に検出されなかった半値幅（FWHM）約 120 nm の微小な脂肪滴が検出できた（スケールバー; 1  $\mu$ m）。STED イメージングの詳細な観察条件、解析方法は参考文献 1 に記載。



### 蛍光プレートリーダーによる細胞内脂肪滴量の相対評価

3 種類の細胞株（ヒト腎がん細胞株 786-O、マウス神経芽細胞種 Neuro2a、チャイニーズハムスター卵巣細胞株 CHO）を 96 well プレートに  $1 \times 10^4$  cell/well で播種し、10% FBS/DMEM 培地で 24 時間培養後、脂肪滴の産生を促進するため 10-200  $\mu$ M オレイン酸を含む 10% FBS/DMEM に交換しさらに 24 時間培養した。その後、細胞を PBS で洗浄し、LipiDye® II (5  $\mu$ M) を含む 2% FBS/DMEM で 2 時間染色した。PBS で 2 回細胞を洗浄し、蛍光プレートリーダーで蛍光強度（Ex 420  $\pm$  5 nm/Em 503  $\pm$  10 nm）を測定した。いずれの細胞においてもオレイン酸の添加濃度依存的に蛍光強度の増加が見られた。



### 参考文献

1. Taki *et al.*, *ACS. Mater. Lett.*, **3**, 42-49 (2021), Fused Thiophene-S,S,-dioxide-Based Super-Photostable Fluorescent Marker for Lipid Droplets

#### 免責事項

本商品は学術研究成果を基にフナコシ株式会社が商品化したもので、2020 年 11 月時点における公開研究報告を基に広告文章およびマニュアル（以下、商品資料）を作成しています。今後の当該研究分野の発展および各種学術知見の拡大にともない、商品資料作成時の学術的解釈が変更になる可能性があり、最新性・確実性を保証するものではありません。また、本商品の仕様および商品資料を予告なく変更する場合がございます。最新の情報に関しましては、弊社までご確認いただきますようお願い申し上げます。

# LipidDye™ II <Lipid Droplet Live Imaging>

Catalog NO. FDV-0027

Research use only, not for human or animal therapeutic or diagnostic use.

日本語版はこちらから  
ダウンロードできます。  
①弊社ウェブサイトより  
Webページ番号検索にて  
【70873】で検索

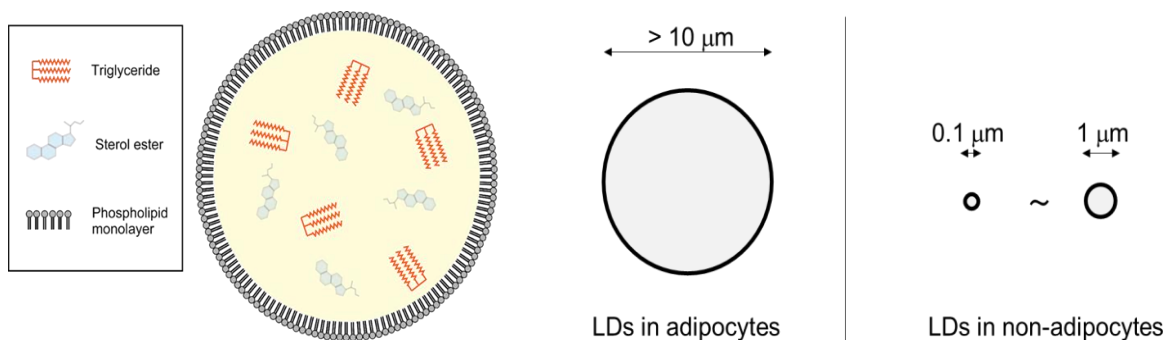
②QRコードより



## Product Background

Lipid droplets (LDs) are organelles that have unique phospholipid monolayer and store neutral lipids such as triglycerides and sterol esters (Figure 1 left). LDs are historically found in adipose tissue and considered as sites for energy storage or lipid turnover. Recent studies discovered that LDs are not only in adipocytes, but also found ubiquitously in cells from yeast to mammalian cells. The numbers, size and composition of LDs largely differ depending on cell types or even within the same cell. For example, adipocytes usually have large LD structures ( $>10\ \mu\text{m}$ ), which can be observed by optical microscopy. On the other hand, non-adipocytes have a much smaller LD structure compared with adipocytes (Figure 1 right). LDs are produced from the endoplasmic reticulum (ER), exported to the cytoplasm and expand via fusion of LDs or incorporation of additionally synthesized neutral lipids. LDs contact with various organelles, including ER, mitochondria, lysosomes, nucleus and shows dynamic movement inside the cells. To observe the dynamic movement of LDs in live cells and investigate the physiological functions of LDs, a specific LD dye compatible with long-term live cell imaging is required.

Conventional fluorescent dyes for LDs such as Nile Red contribute to elucidate biological functions of LDs, but its sensitivity and selectivity are limited to detect relatively large LDs in adipocytes or cells treated with excess lipids. It is challenging for conventional dyes to detect small LDs often found in non-adipocytes under live cell conditions. Funakoshi provides a green fluorescent dye LipidDye™ (catalog no. #FDV-0010), which shows high sensitivity and selectivity for LDs and can detect approximately  $1\ \mu\text{m}$  sizes of LDs. Although LipidDye™ is a powerful tool to monitor small LDs in non-adipocytes, LipidDye™ requires 405 nm excitation and has insufficient photostability, not suitable for long-term live cell imaging to observe dynamic LDs synthesis, movement or degradation. Here, **LipidDye™ II**, an upgrade version of LipidDye™, can be excited by less toxic 450-480 nm light and exhibits super-photostability. LipidDye™ II (original compound name LAQ1 in Ref.1) is very suitable for long-term live cell imaging, including Z-stack time-lapse imaging with multiple time excitations for short-term intervals. For example, LipidDye™ II was applied in long-term imaging for drug-induced LD-degradation processes for 12 hours with 3,000 image captures and visualized lipolysis of LDs and de novo synthesis of very small ( $<1\ \mu\text{m}$ ) LDs. Furthermore, LipidDye™ II is compatible with STED microscopy and enables detecting less than  $500\ \text{nm}$  LDs in HeLa cells.



**Figure 1. Overview of LDs**

Left: Structural image and major composition of the LD, Right: Typical size of adipocytes and non-adipocytes



## Description

Catalog Number: FDV-0027

Size: 0.1 mg

Formulation:  $C_{26}H_{17}NO_2S_2$

Molecular weight: 439.5 g/mol

Solubility: Soluble in DMSO

Fluorescent characteristics:

Ex. 400-500 nm (maximum ~420 nm)

Compatible with blue excitation lasers (ex. 405, 445, 458, 473 and 488 nm\* lasers, etc.), Xenon lamp or LED with commercial FITC or GFP filters.

\*Note 488 nm laser can excite LipiDye™ II but shows weak fluorescence compared with 473 nm excitation.

If using 488 nm laser, please empirically optimize imaging conditions such as dye concentration etc. for your experiments.

Em. 450-650 nm (dependent on solvents)

Maximum ~510 nm in soybean oil similar to LDs. Around 490-550 nm range is recommended.

---

## Reconstitution and Storage

Reconstitution: Stock solution recommended concentration 1 mM in 100% DMSO.

Storage (powder): Store powder at RT

Storage (solution): After reconstitution in DMSO, aliquot and store at -20°C.

Avoid repeated freeze-thaw cycles.

---

## How to use

### General procedure for live cell imaging

\*This procedure is an example of cultured cell staining.

1. Prepare 1  $\mu$ M LipiDye™ II in serum-free and phenol red-free medium such as DMEM

NOTE-1: LipiDye™ II is compatible with FBS-containing medium but please optimize FBS and LipiDye™ II concentrations.

NOTE-2: Recommended concentration is 0.1  $\mu$ M for ~405 nm excitation and 1  $\mu$ M for ~473 nm excitation.

Empirically optimize and determine the concentration of LipiDye™ II for your experiments.

2. Remove culture medium and wash cells PBS several times

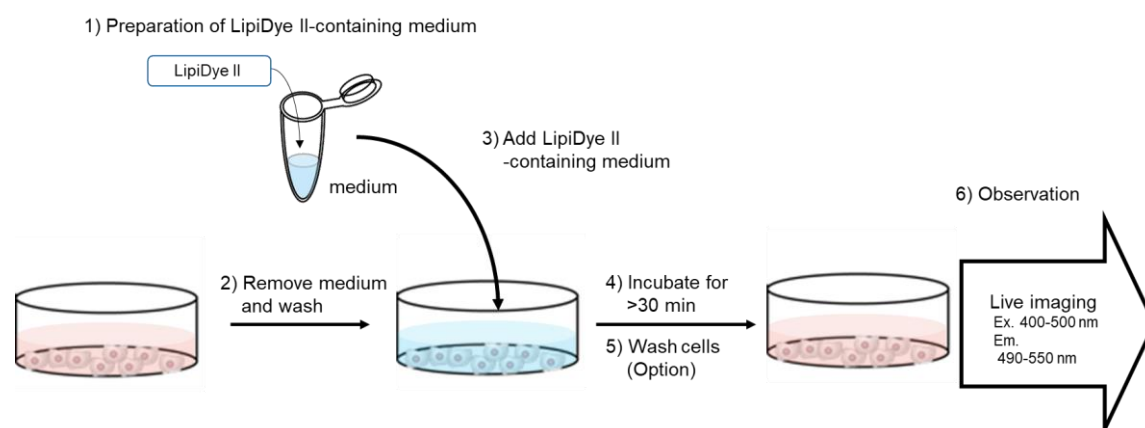
3. Add LipiDye™ II-containing medium to cells

4. Incubate cells at 37 °C for over 30 min

NOTE-3: Empirically optimize incubation time for your experiments.

5. Wash cells with PBS or medium and add fresh medium (Optional)

6. Observe cells



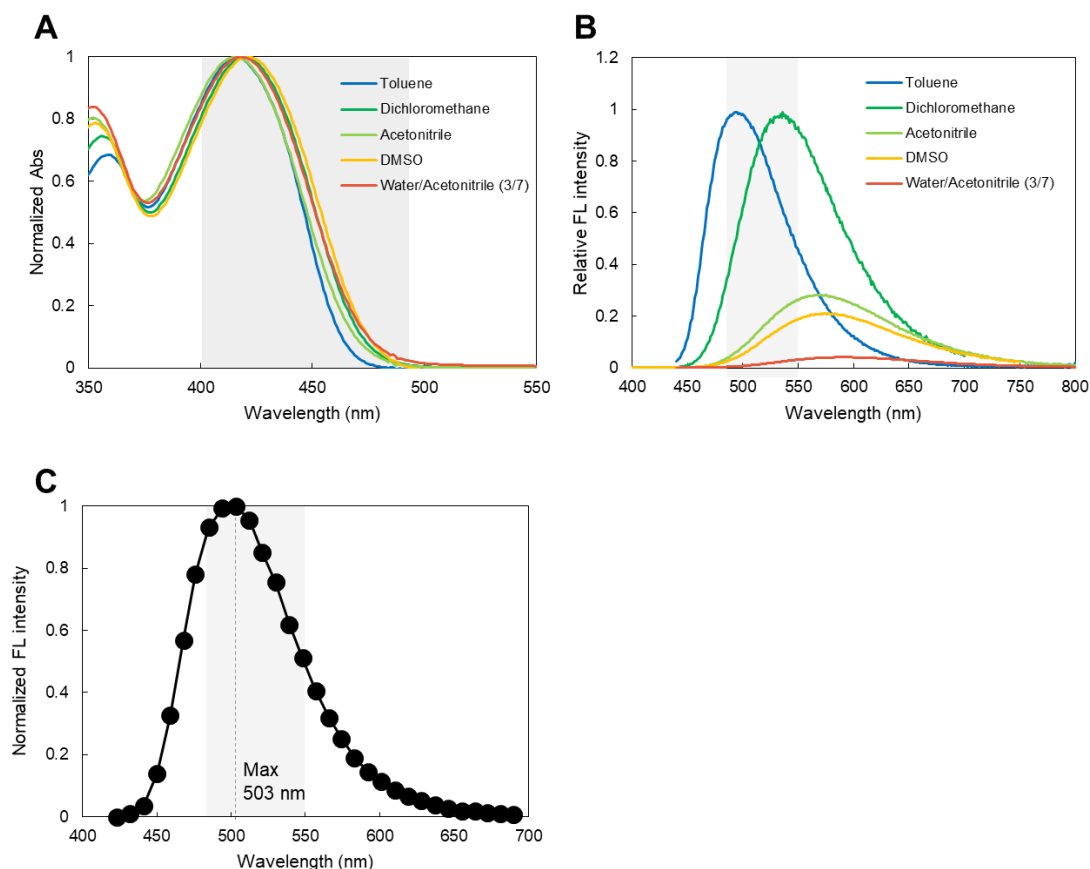
## Reference data

### Spectrum of LipiDye™ II

(A) Absorption spectrum in various solvents.

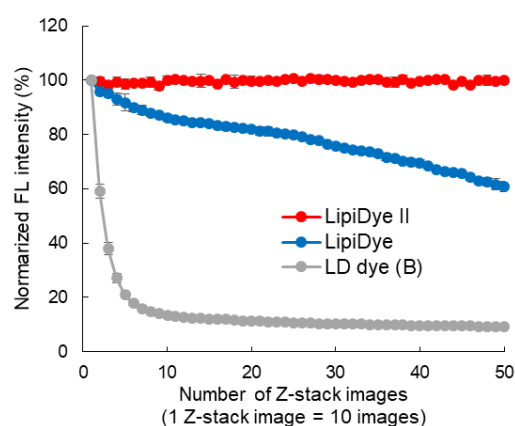
(B) Emission spectrum in various solvents. LipiDye™ II is a solvatochromic dye and shows a different spectrum in each solvent. Under low polaric solvents, toluene and dichloromethane, emits from blue to green fluorescence with high quantum yield. On the other hand, under high polaric solvents, acetonitrile, DMSO and water, LipiDye™ II exhibits a weak fluorescence intensity with a red-shift fluorescence.

(C) Emission spectrum in cellular LDs measured by fluorescent microscopy.



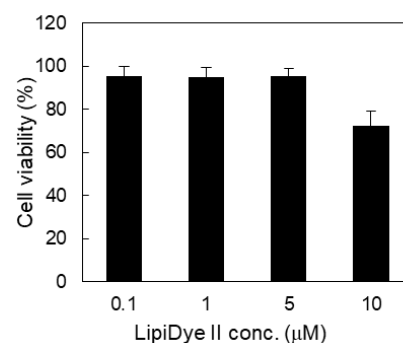
### Photostability of LipiDye™ II in the cell

3T3-L1 adipocytes pre-fixed in 4% formaldehyde were stained with LipiDye™ II, prototype LipiDye™ and conventional LD dye (B). The free dyes were removed by washing and z-stack images ( $z=10$  with a 2  $\mu$ m step) of the adipocytes in the same area were repeatedly acquired by confocal microscopy (Ex 473 nm/Em 490-540 nm). The total fluorescence was measured and normalized intensity was calculated. The fluorescent intensities from conventional dye B dramatically reduced by repeated light irradiation, including LipiDye™ gradually decreased. LipiDye™ II maintained its fluorescence at least 50 z-stack images (total 500 images).



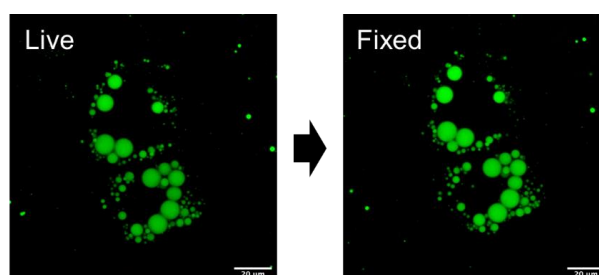
### Cytotoxicity of LipiDye™ II

3T3-L1 adipocytes were treated with various concentrations of LipiDye™ II for 24 hours. After incubation, cell viability was evaluated by MTT assay. At least 5  $\mu\text{M}$  showed little cytotoxicity on adipocytes. The recommended concentration of LipiDye™ II for LD-staining is 0.1-1  $\mu\text{M}$ .



### Comparison of the fluorescence intensity under live cell and after PFA fixation

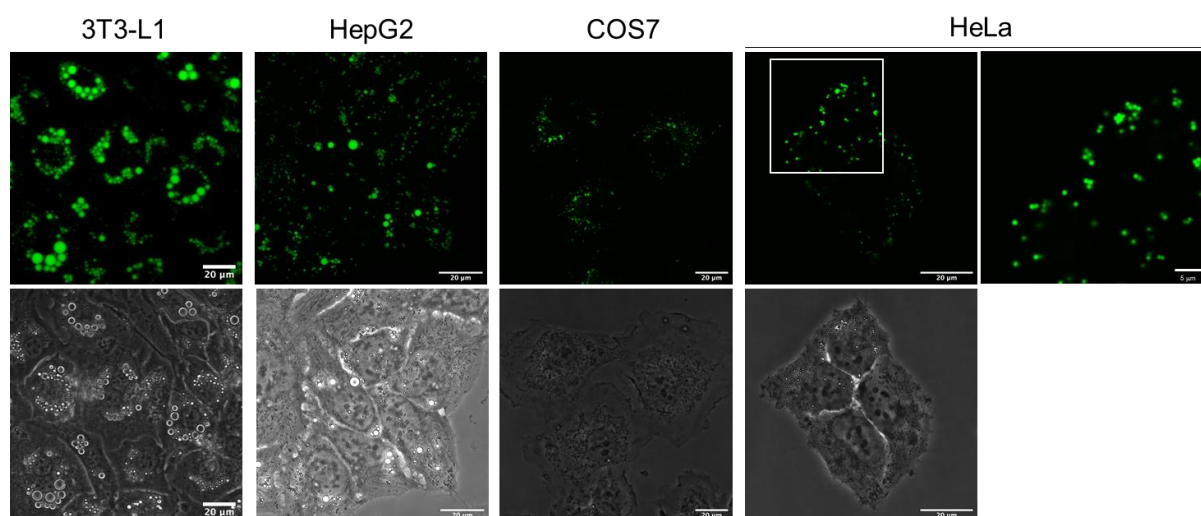
3T3-L1 adipocytes stained with LipiDye™ II and were observed under live cell conditions (left). After recording the live cell image, the cells were subsequently fixed with 4% PFA and observed by confocal microscopy (Ex. 473 nm/Em 490-540 nm). Fixation has little effect on the fluorescent intensity of LipiDye™ II. LipiDye™ II is compatible with any immunocytochemical experiments after the live cell imaging experiments.



## Application data

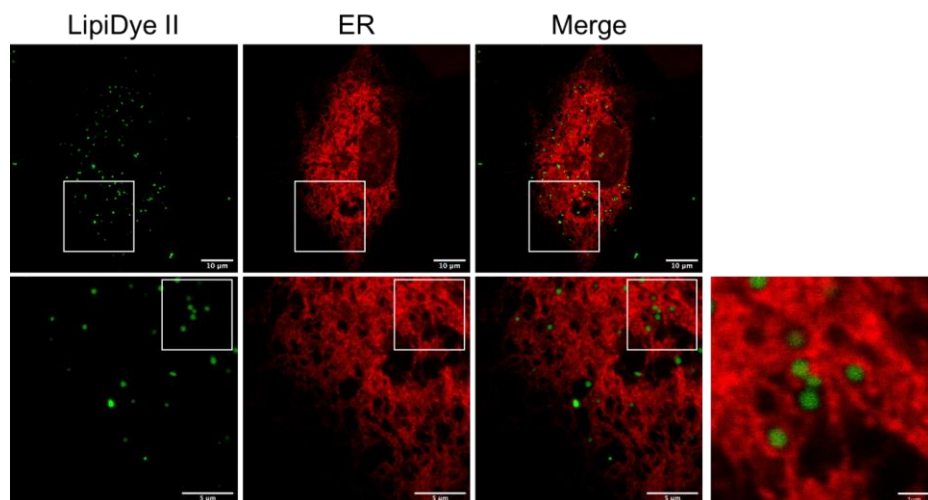
### Staining of various cells

3T3-L1, HepG2, COS-7 and HeLa cells were stained with LipiDye™ II (1  $\mu\text{M}$ ) for 12 hours and observed by confocal microscopy (Ex. 473 nm/Em 490-540 nm). In the case of HepG2 cells were pretreated with palmitic acid (0.33 mM) /oleic acid (0.66 mM), one day before LipiDye™ II staining. In HeLa cells, small LDs of approximately 1  $\mu\text{m}$  were clearly observed. (Scale bar: 20  $\mu\text{m}$ , HeLa cell enlarged 5  $\mu\text{m}$ )



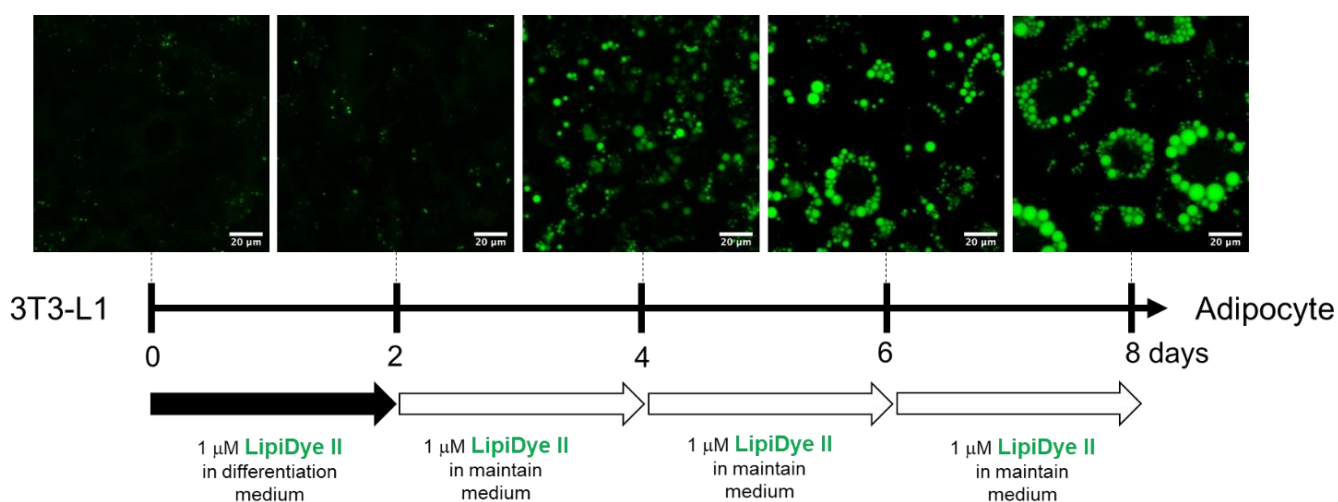
### Multicolor imaging with ER marker

COS7 cells expressing ER-resident fluorescent protein (mKO1) were stained with LipiDye™ II (1  $\mu$ M) for 12 hours. After washing, the cells were observed by confocal microscopy (LipiDye™ II; Ex. 473 nm/Em 490-540 nm, mKO1; Ex. 635 nm/Em 660-710 nm). Small LDs less than 1  $\mu$ m were frequently observed in the network structure of ER. (Scale bar: 20  $\mu$ m, 5  $\mu$ m and 1  $\mu$ m)



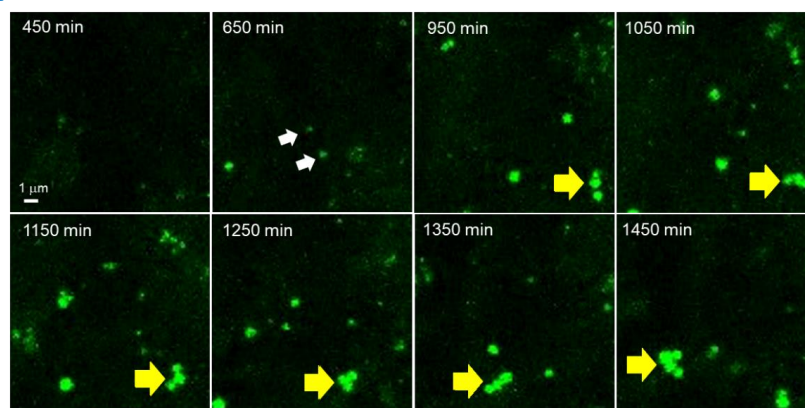
### Long-term staining during adipocyte differentiation and maturation

Two days after confluence, 3T3-L1 preadipocytes were stained with LipiDye™ II for 12 hours. After washing with fresh medium, the cells were incubated with a differentiation medium containing 1  $\mu$ M LipiDye™ II and the first image (0 days) was recorded by confocal microscopy (Ex. 473 nm/Em 490-540 nm). After two days of differentiation, the medium was replaced with a maintenance medium containing 1  $\mu$ M of LipiDye™ II. During acquisition of the images, the medium containing LipiDye™ II was exchanged every 2 days. (Scale bar; 20  $\mu$ m)



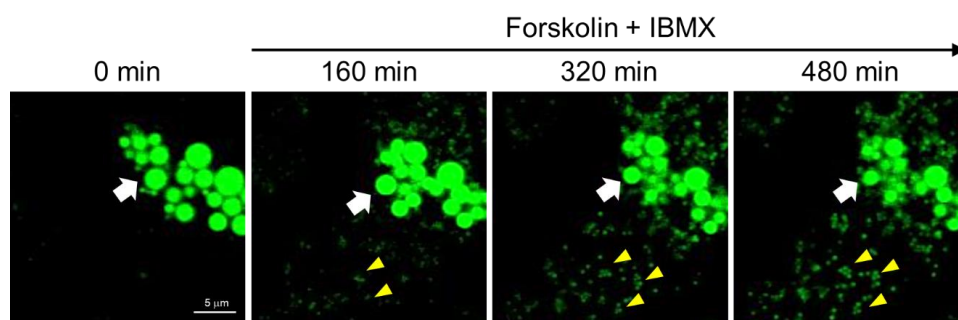
### Time-lapse Z-stack imaging of adipogenesis

3T3-L1 preadipocytes cultured in differentiation medium containing 1  $\mu\text{M}$  LipiDye<sup>TM</sup> II and time-lapse Z-stack imaging (20 z-images/10 min, for 24 hours) was performed by confocal microscopy (Ex. 473 nm/Em 490-540 nm). After ~10 hours differentiation, small LDs were observed (650 min, white arrows) and some LDs were docking with other LDs during adipogenesis (1050-1450 min, yellow arrow). (Scale bar; 1  $\mu\text{m}$ )



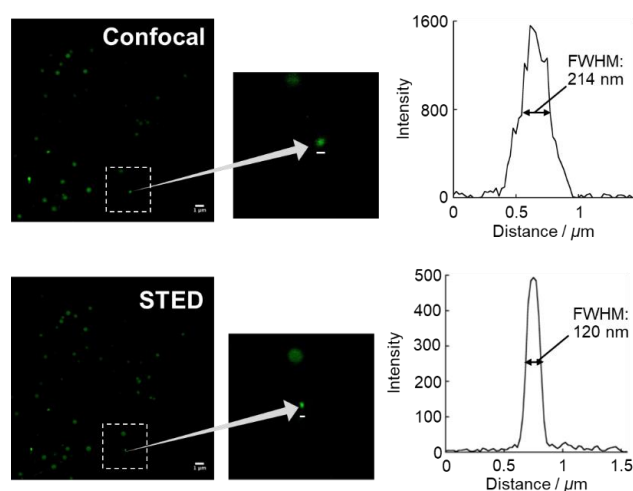
### Time-lapse Z-stack imaging of lipolysis and lipogenesis

3T3-L1 adipocytes were incubated with 1  $\mu\text{M}$  LipiDye<sup>TM</sup> II and washed with media to remove the free dye. After then the cells were treated with Forskolin (10  $\mu\text{M}$ ), an activator of adenylyl cyclases, and IBMX (100 nM), an inhibitor of phosphodiesterases. These drugs increased the intracellular concentration of cAMP and subsequently promoted the hydrolysis of triacylglycerols. Immediately after the addition of drugs, time-lapse Z-stack imaging (15 z-images/4 min, for 800 min, total 3000 images) were performed by confocal microscopy (Ex. 473 nm/Em 490-540 nm). Some large LDs clearly contracted or disappeared caused by the drugs. After two hours, numerous newly formed small LDs were observed. (Scale bar; 5  $\mu\text{m}$ )



### Live-cell STED super resolution microscopy imaging

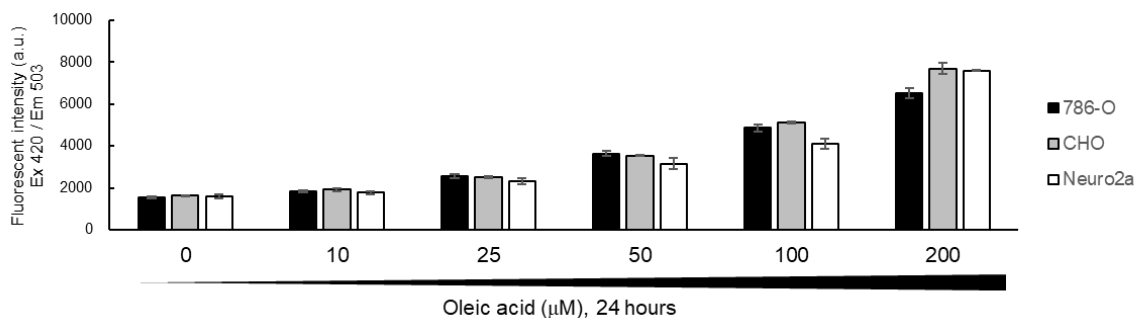
HeLa cells were treated with 1  $\mu\text{M}$  LipiDye<sup>TM</sup> II, washed and cultured in medium. The cells were imaged by confocal laser microscopy (Ex 473 nm/ Em 490-540 nm) and STED microscopy (Ex 473 nm/ Em 500-640 nm, depletion laser 660 nm). STED imaging detected ~120 nm (FWHM) small LD, which was not clearly detected by confocal microscopy. Detailed STED imaging condition and analysis methods were described in Ref.1. (Scale bar 1  $\mu\text{m}$ )





### Semi-quantitative analysis of cellular lipid droplets by fluorescent plate reader

Three cell lines (human renal cancer cell line 786-O, mouse neuroblastoma cell line Neuro2a, and Chinese hamster ovarian cell line CHO) were seeded in 96 well plate at  $1 \times 10^4$  cell/well and cultured in DMEM containing 10% FBS (10% FBS/DMEM). After 24 hours, cells were treated with 10-200  $\mu\text{M}$  oleic acid in 10% FBS/DMEM for further 24 hours to promote growth of lipid droplets. After washing cells, the cells were stained by 5  $\mu\text{M}$  LipiDye™ II-containing 2% FBS/DMEM for 2 hours. Just before fluorescent plate reader measurement, cells were washed by PBS twice and fluorescent intensity (Ex 420  $\pm$  5 nm/Em 503  $\pm$  10 nm) of each well was measured. In all cell lines, oleic acid dose-dependency was observed.



### Reference

1. Taki *et al.*, *ACS. Mater. Lett.*, **3**, 42-49 (2021), Fused Thiophene-S,S,-dioxide-Based Super-Photostable Fluorescent Marker for Lipid Droplets

#### Disclaimer/免責事項

This product has been commercialized by Funakoshi Co., Ltd. based on the results of academic research, and the advertisement text, figures and manuals (hereinafter “Product information”) have been prepared based on published research reports on November, 2020. The academic interpretation at the time of creation of the Product Information may change in accordance with future developments in the relevant research field and expansion of various scientific findings, and the latest version and certainty of the Product Information are not guaranteed. The specifications of this product and the Product Information are subject to change without notice. Please contact us for the latest information.

本商品は学術研究成果を基にフナコシ株式会社が商品化したもので、2020年11月時点における公開研究報告を基に広告文章およびマニュアル(以下、商品資料)を作成しています。今後の当該研究分野の発展および各種学術知見の拡大にともない、商品資料作成時の学術的解釈が変更になる可能性があり、最新性・確実性を保証するものではありません。また、本商品の仕様および商品資料を予告なく変更する場合がございます。最新の情報に関しましては、弊社までご確認いただきますようお願い申し上げます。



E-mail Newsletter  
Sign Up

Japanese



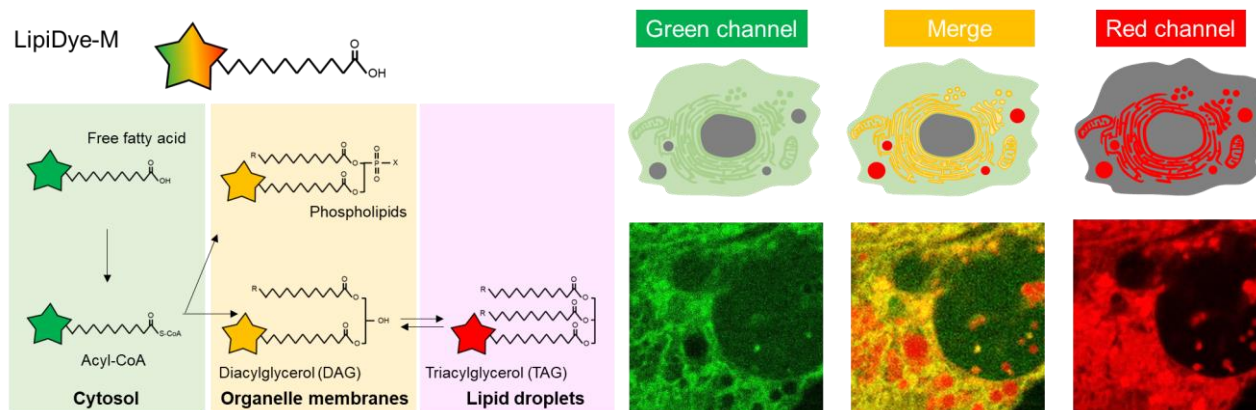
English



## Related products

### LipidDye™-M <Lipid Metabolism Tracer>

LipidDye™-M is a C12 fatty acid mimic labeled with a novel solvatochromic dye. As LipidDye™-M exhibits green-to-red fluorescence depending on its lipid structure and its localization, LipidDye™-M can trace status of cellular fatty acid uptake and lipid metabolism in cells. LipidDye™-M is a powerful tool for both basic research and pharmaceutical research for lipid metabolism.



Catalog No. FDV-0028

Size 0.1 mg

#### Features

- allows to perform three-color imaging (green, yellow and red) by merging images from a green channel (Ex. 450-490 nm / Em. 490-540 nm) and red channel (Ex. 550-600 nm / Em. 570-620 nm)
- can also be taken up to cells by FA-transporters and converted into many types of lipids, including acyl-CoA, phospholipids, DAGs, TAGs, and degraded to small metabolites by the mitochondrial FAO pathway.
- Emits green fluorescence in high polarity (cytosol), yellow fluorescence in moderate polarity (organelle membranes) and red fluorescence in low polarity (lipid droplets)

### FAOBlue™ <Fatty Acid Oxidation Detection Reagent>

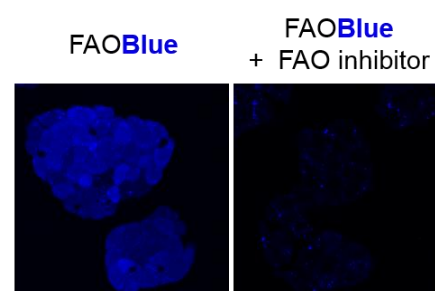
FAOBlue™ is a cell-based fatty acid beta-oxidation (FAO) detection dye which emits blue fluorescence upon cellular FAO activity.

Catalog No. FDV-0033

Size 0.2 mg

#### Features

- Ex/Em:~405 nm / 460 nm
- Enable to directly detect cellular FAO activity in live cells
- Apply quantitative comparison of FAO activity between different cell types
- Can monitor the drug-induced change of FAO activity



**funakoshi**  
FRONTIERS IN LIFE SCIENCE  
URL: <http://funakoshi.co.jp>  
9-7 Hongo 2-Chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033