〒113-0033
東京都文京区本郷 2-9-7
フナコシ株式会社

NucleoSeeing® <Live Nucleus Green>

商品コード FDV-0029

※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

細胞核は DNA の貯蔵庫として細胞分裂や遺伝子発現制御などさまざまな細胞機能を担う，細胞で最も重要なオルガネラのひとつです。そのため，細胞核のダイナミックな動態をライブイメージングで観察することは，非常に重要な課題とされています。古くよりさまざまな核染色試薬が開発されており，最も有名な核染色試薬のひとつである Hoechst33342 は，その細胞膜透過性などの特性から幅広いアプリケーションで使用されています。しかし，青色蛍光色素である Hoechst は励起光として紫外光を用いるため，光毒性が強く生細胞イメージングに適用できない問題がありました。また，近年，生細胞に適用可能な核染色試薬として緑色蛍光色素や赤色蛍光色素がいくつか開発されていますが，化合物の細胞毒性や DNA/RNA 特異性に課題があるとされています。

NucleoSeeing®は DNA 特異的な緑色蛍光性化合物で（参考文献 1），緑色蛍光色素のフルオレセインと DNA 特異的に結合する Hoechst33342 が PEG リンカーによって連結したユニークな化学構造を有します。NucleoSeeing®には，これら 2 つの蛍光色素が含まれますが，DNA の非存在時は折り畳まれた構造を示し，消光状態にあります。一方，二本鎖 DNA が存在すると NucleoSeeing®は DNA に結合し緑色蛍光を発します（励起／蛍光波長：488 nm / 520 nm）（図 1）。この特性によって，高い S/N 比で細胞核を観察することができます。さらに，NucleoSeeing®は Hoechst と同様に DNA 特異的に結合しますが，Hoechst33342 に比べて，光毒性や化合物の細胞毒性が低いという特長があります。このことによって，細胞核のダイナミックな動態の長時間イメージング（～20 時間）に成功しています。NucleoSeeing®はこれまで，さまざまな哺乳動物細胞株やマウスの培養脳組織などで検証されています。また，動物細胞のみならず植物細胞，例えばシロイヌナズナ葉細胞での実績もあります。植物細胞では葉緑体由来の自家蛍光を示すことが知られていますが，NucleoSeeing®では核由来のシグナルと葉緑体由来の自家蛍光のシグナルを分離することができます。

NucleoSeeing®は細胞核イメージングに加えて，細胞核特異的な pH センシングにも応用可能です。これは NucleoSeeing®を構成するフルオレセインおよび Hoechst33342 の pH 依存的な蛍光特性に基づきます。NucleoSeeing®を 405 nm で励起すると，pH に依存してフルオレセインおよび Hoechst33342 の蛍光比の値が変化します。この特性を利用して核内 pH を算出することができます。すなわち NucleoSeeing®は，世界で初めて市販された核特異的 pH センシング試薬としても利用できます。核内 pH 測定については**”Appendix”**をご覧下さい。

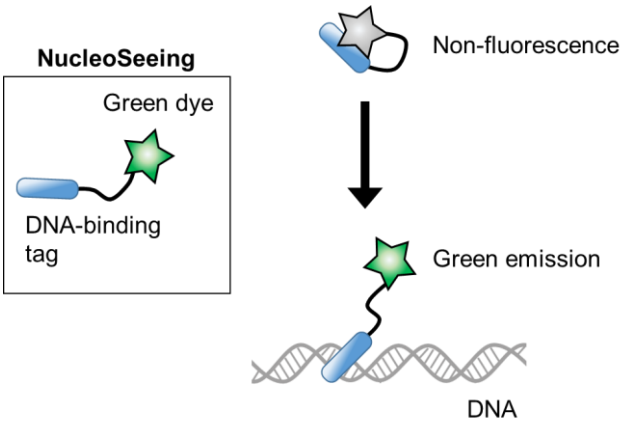


図 1. NucleoSeeing®概要

商品仕様

商品コード: FDV-0029
包装: 0.1 mg
分子量: 1425 g/mol （3TFA 塩として計算）
溶解性: DMSO に溶解
蛍光色素分子：フルオレセイン（緑色蛍光色素）
Ex/Em: 488 nm/520 nm　*FITC フィルターセット適合

アプリケーション

-培養細胞/培養組織の生細胞イメージング
-植物細胞の生細胞イメージング
-固定細胞の核染色
-核内 pH センサー（" Appendix"参照）

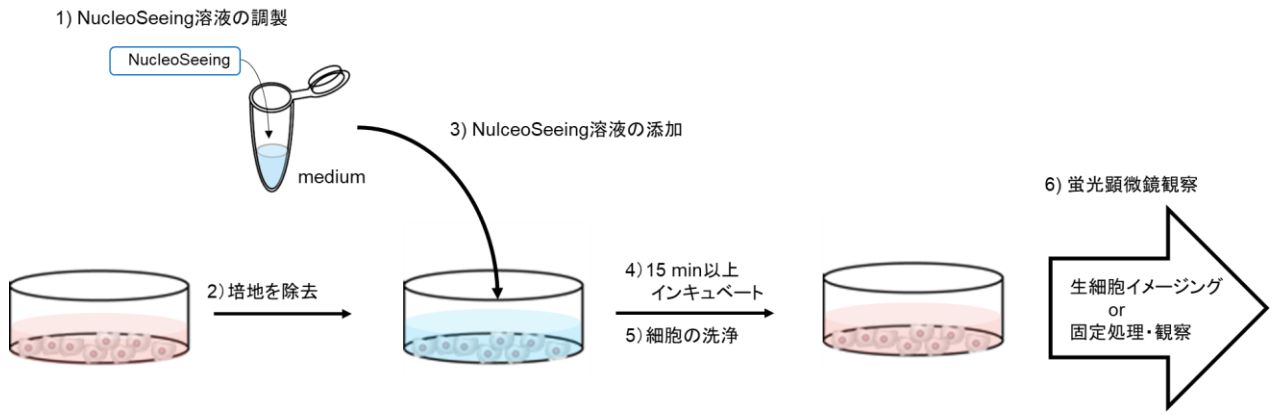
溶解方法と保存方法

溶解方法: 100% DMSO で溶解しストック溶液とする。
保存方法（溶解前）: -20℃で保存。
（溶液後）: DMSO 溶液として調製後は小分注して-20 °C で保管
凍結融解の繰り返しは避け、小分注品の使い切りを推奨

使用方法

細胞核イメージングのプロトコール例

1. NucleoSeeing®が 1-20 μM になるよう新しい培地に添加し、NucleoSeeing®溶液を調製する。
   注: 試薬の濃度は，実験に合わせて最適化してください。NucleoSeeing®は，FBS 含有培地で使用可能です。FBS 含有培地で NucleoSeeing®を使用する場合は，通常より高い濃度（>5 μM）での使用を推奨します。詳細は**アプリケーションデータ**をご確認ください。
2. 培養細胞の培地を取り除く。
3. NucleoSeeing®溶液を細胞に添加する。
4. 細胞を 37℃で 15 分以上インキュベートする。
5. 細胞を PBS または任意の培地で洗浄し、新しい培地を加える（オプション）
   注: 短時間の観察，可逆的な染色，高感度な検出では，洗浄を推奨します。一方，長時間の観察では，洗浄なし/培地交換なしを強く推奨します。
6. 細胞をライブイメージングで観察，もしくは 4% PFA またはメタノールで固定して観察する。

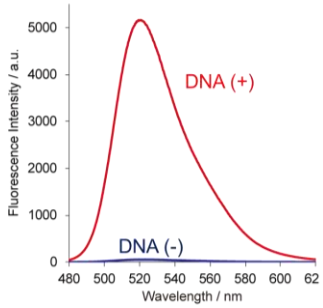


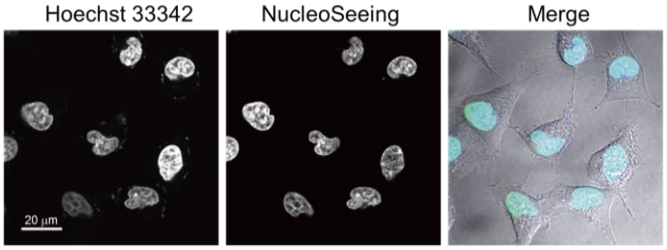
アプリケーションデータ

NucleoSeeing®の基本情報

左：DNA 存在下/非存在下における 460 nm 励起による蛍光スペクトラム。NucleoSeeing®は DNA 存在下でのみ強い緑色蛍光を示す。

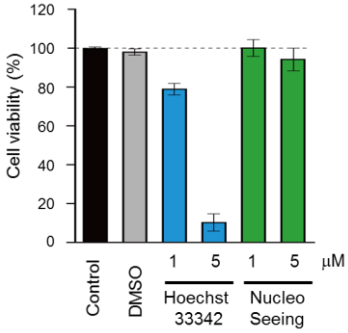
右：生細胞において，DNA 特異的な結合試薬である Hoechst33342（青）と NucleoSeeing®（緑）で共染色を行ったところ，高い一致が見られた。





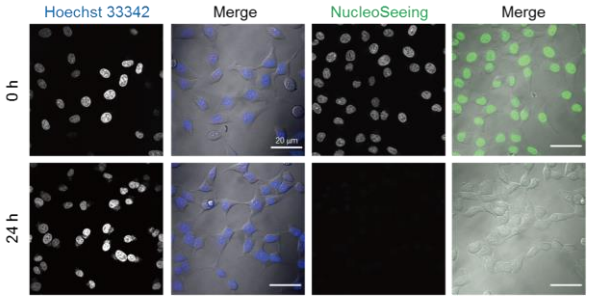
細胞毒性

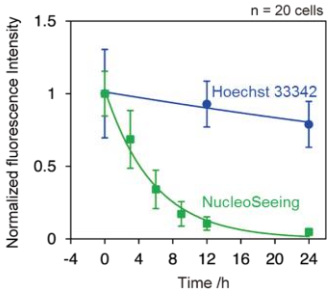
青色核染色試薬として汎用される Hoechst33342 と NucleoSeeing®の細胞毒性を MTT アッセイにより確認した。Hoechst は 5 μM で著しい細胞死が観察されたのに対し，NucleoSeeing®では少なくとも 5 μM まで細胞毒性が観察されなかった。



可逆的な染色

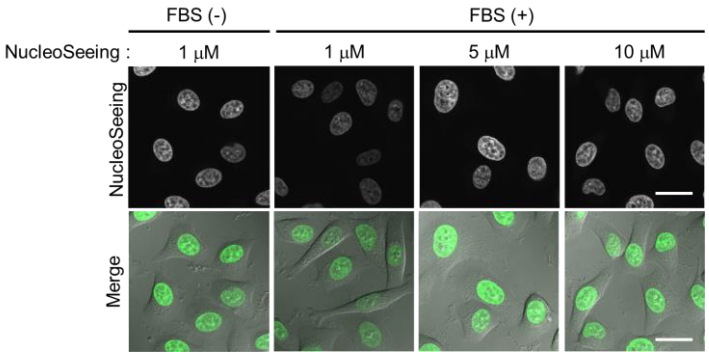
Hoechst33342 および NucleoSeeing®の細胞滞留性を評価するため，Hela 細胞を各試薬 1 μM で 15 分間処理後，PBS で洗浄，培地交換して 24 時間蛍光強度の変化を観察した。Hoechst33342 は 24 時間後でも 80%程度の蛍光強度が維持され不可逆性を示したのに対し，NucleoSeeing®は時間依存的に蛍光強度が減衰し，12 時間以降ほぼ全量が排出された。NucleoSeeing®は可逆的な核染色試薬として使用できることが示された。





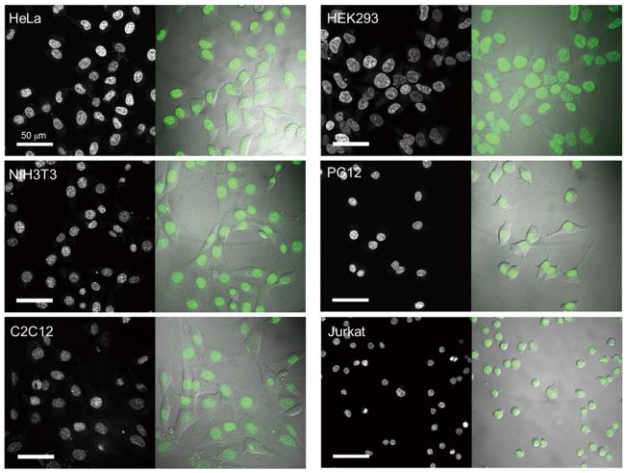
FBS の影響について

培地中の FBS の影響を評価するため，FBS（10%）有無の条件下で Hela 細胞を 15 分間 NucleoSeeing®で染色し，蛍光強度を共焦点レーザー顕微鏡により観察した（Ex. 488/ Em 500-600 nm）。画像取得条件（励起光レーザーパワーおよび蛍光検出感度）は同一とした。NucleoSeeing®濃度を 1 μM 条件にした場合，FBS 添加により蛍光強度減少が観察された。FBS 存在下では，試薬濃度を上げることで核染色性は改善した。



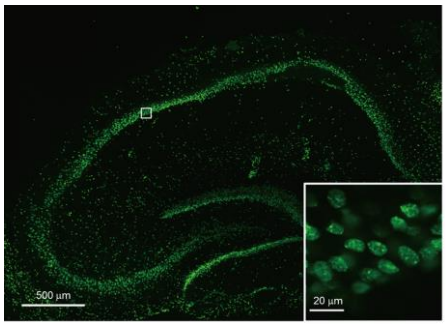
さまざまな培養細胞の核染色

6 種類の培養細胞を NucleoSeeing® 1 μM で 15 分間インキュベートした後，培地交換して生細胞で観察した。いずれの細胞でも核特異的なシグナルが観察された。



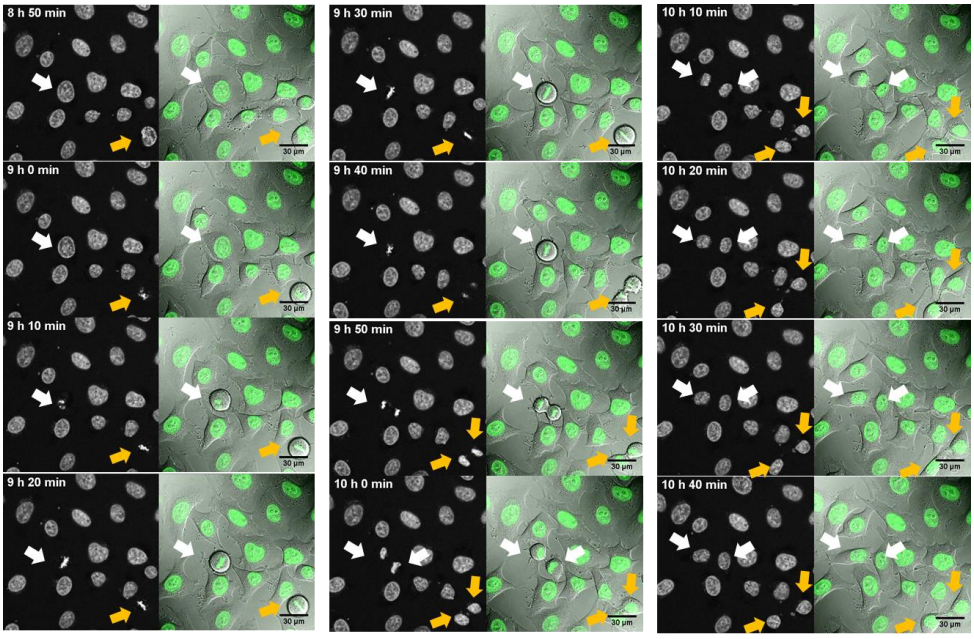
マウス脳（海馬）スライス培養組織の染色

マウス脳海馬のスライス培養組織に対し，NucleoSeeing® を 20 μM 培地に添加し 15 分間の染色後，培地交換して未固定条件で観察した。



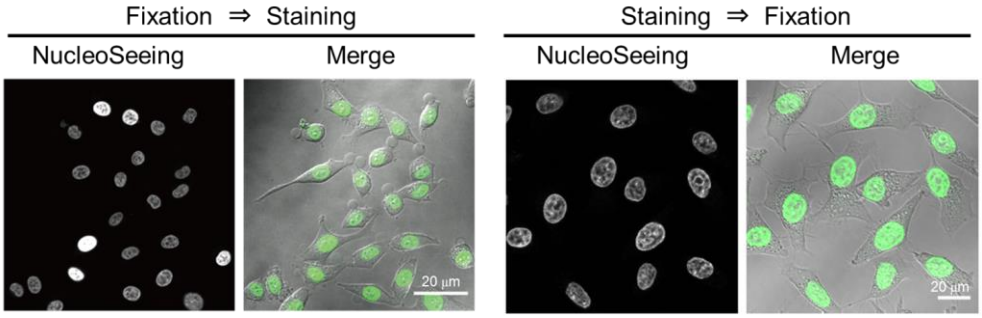
有糸核分裂細胞の長時間タイムラプスイメージング

HeLa 細胞をガラスボトムディッシュに播種し，0.5 μM NucleoSeeing® in DMEM (+10%FBS)で 1.5 時間インキュベートした後，未洗浄条件にて 10 分間隔で計 20 時間，共焦点レーザー顕微鏡にてタイムラプスイメージングを行った（Ex. 488/ Em. 500-600 nm， 60x oil lens）。有糸染色体分裂の様子が観察され，細胞が増殖する過程が観察できた（白矢印とオレンジ矢印：有糸分裂中の細胞）。
*動画はウェブページでご確認いただけます。



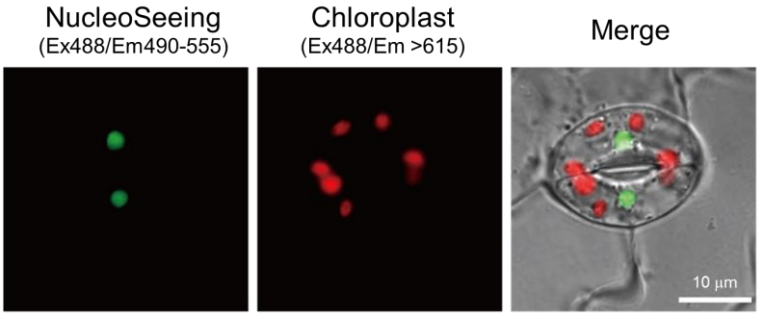
固定細胞における染色

左：固定後染色。HeLa 細胞を 4%パラホルムアルデヒドで固定処理後，1 μM NucleoSeeing®で 15 分間染色を行った。染色後、PBS で洗浄し観察した（Ex. 488/ Em. 520 nm）。
右：染色後固定。HeLa 細胞に NucleoSeeing® 5 μM を添加して 15 分間染色後，細胞を洗浄して 4%パラホルムアルデヒドで固定し観察した（Ex. 488/ Em. 520 nm）。
※ メタノール固定も可能ですが，シグナルが減弱することがあります。



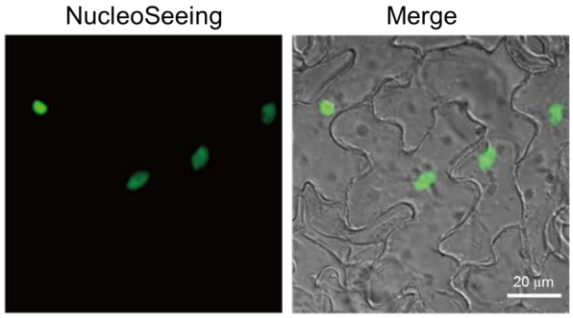
シロイヌナズナの葉の孔辺細胞の染色例

シロイヌナズナの葉の切片について，NucleoSeeing® 20 μM（in 10 mM MES-KOH， 50 mM KCL（pH 6.2）バッファー）で 60 分間処理した後，切片を洗浄し，観察した。励起光 488 nm において，緑色蛍光領域 490～555 nm では閉口状態の孔辺細胞の核が観察され，615 nm 以上の波長領域では葉緑体由来の自家蛍光が観察された。本試薬を用いることで，葉緑体の自家蛍光と切り分けて細胞核が観察できた。



シロイヌナズナの表皮細胞の染色例

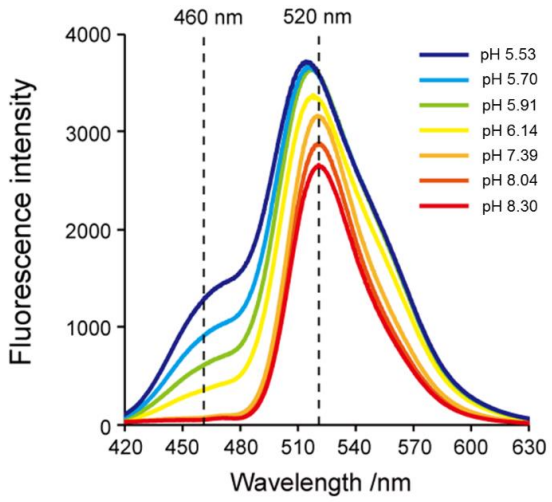
シロイヌナズナの葉の切片について，NucleoSeeing® 20 μM（in 10 mM MES-KOH， 50 mM KCL（pH 6.2）バッファー）で 60 分間処理した後，切片を洗浄し，観察した。表皮細胞の核特異的な染色が確認された（Ex. 488/ Em. 490-555 nm）。



Appendix：NucleoSeeing®を用いた核内 pH センシング

細胞核は核膜と呼ばれる外膜と内膜の 2 枚の脂質二重膜からなる特殊な膜構造を有しており，細胞質とは隔離されています。核内と細胞質の物質のやり取りは核膜孔を介して行われますが，核内と細胞質の環境は異なると考えられています。近年，核膜には核膜特異的なプロトンポンプ（H^+-ATPase）が存在し，核と細胞質の間にプロトン勾配を生み出すことが示唆されています。生理現象に応じた核内の pH の変化の測定が期待されていますが，これまで十分な試薬は開発されてきませんでした。

名古屋工業大学 築地教授らは NucleoSeeing®が pH 依存的な蛍光特性を有することを明らかにし，核内 pH センシングツールとして使用できることを報告しています（参考文献 3）。NucleoSeeing®は核染色試薬として，通常は励起光 480 nm／蛍光 520 nm で使用しますが，励起光 405 nm を使用すると 460 nm 付近，および 520 nm 付近の蛍光が pH に依存して変化します。励起光 405 nm における 460 nm および 520 nm の蛍光強度比（F520 / F460）を測定することで，pH5.5～8.5 の間でシグモイド曲線が観察されます（図 A1）。この原理を利用することで，細胞核内の pH センシングが可能です。核内 pH を測定するためには、代表的な K^+/H^+イオノフォアである nigericin を含む pH 標準バッファーでの細胞を用いたコントロール実験が必要です。また、実験毎に検量線が必要です。



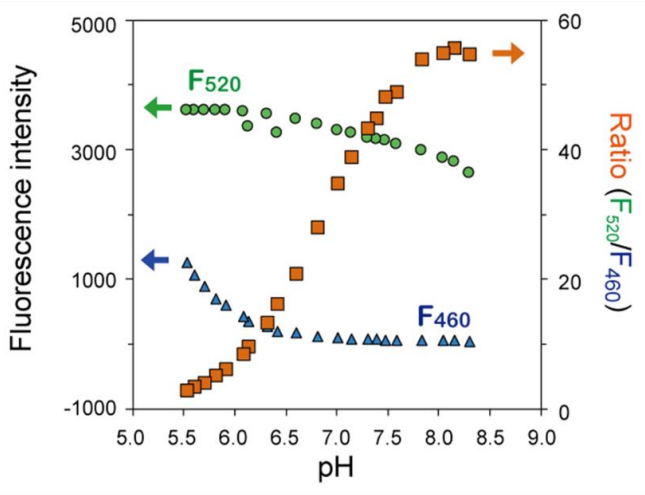


図 A1. pH 依存的な蛍光プロファイル

左：NucleoSeeing®の励起波長 405 nm における蛍光スペクトルと pH 依存性。pH5.5～8.5 の間では，460 nm 周辺および 520 nm 周辺の蛍光強度が pH 低下とともに増加する。
右：各 pH における，460 nm および 520 nm の蛍光強度 F（励起波長 405 nm）と蛍光強度比(F_{520} / F_{460})。

注: NucleoSeeing®は生細胞用に細胞膜透過性が最適化されており，細胞内に取り込まれた後，エステラーゼにより加水分解され，活性本体に変換されます。本データは検証用に化学合成した活性本体（NucleoSeeing®の加水分解体）を用いて *in vitro* で測定したものです。NucleoSeeing®をそのまま *in vitro* で使用しても本データを再現できませんのでご注意下さい。

別途必要な試薬

- nigericin（代表的な K^+/H^+イオノフォア）
-pH 標準バッファー（例：10 mM MOPS，130 mM KCl，10 mM NaCl，1 mM $MgSO_4$）pH 範囲：5.5-8.5

使用方法

1.検量線用 pH 標準バッファー（10 mM MOPS, 130 mM KCl, 10 mM NaCl, 1 mM $MgSO_4$）の調製（pH5.5-8.5）および 10 μg/ml nigericin 含有 pH 標準バッファーの調製。
2.細胞を NucleoSeeing® (1-10 μM)で 15 分間インキュベートする。
3.各 pH 標準バッファーで 2 回細胞を洗浄した後，細胞を 10 μg/ml nigericin 含有 pH 標準バッファーで 37℃，30 分間インキュベートする。
4.細胞を観察する（Ex. 405 nm/ Em. 520 nm および 460 nm）。

データ例

In cellulo における NucleoSeeing®による核内 pH 観察

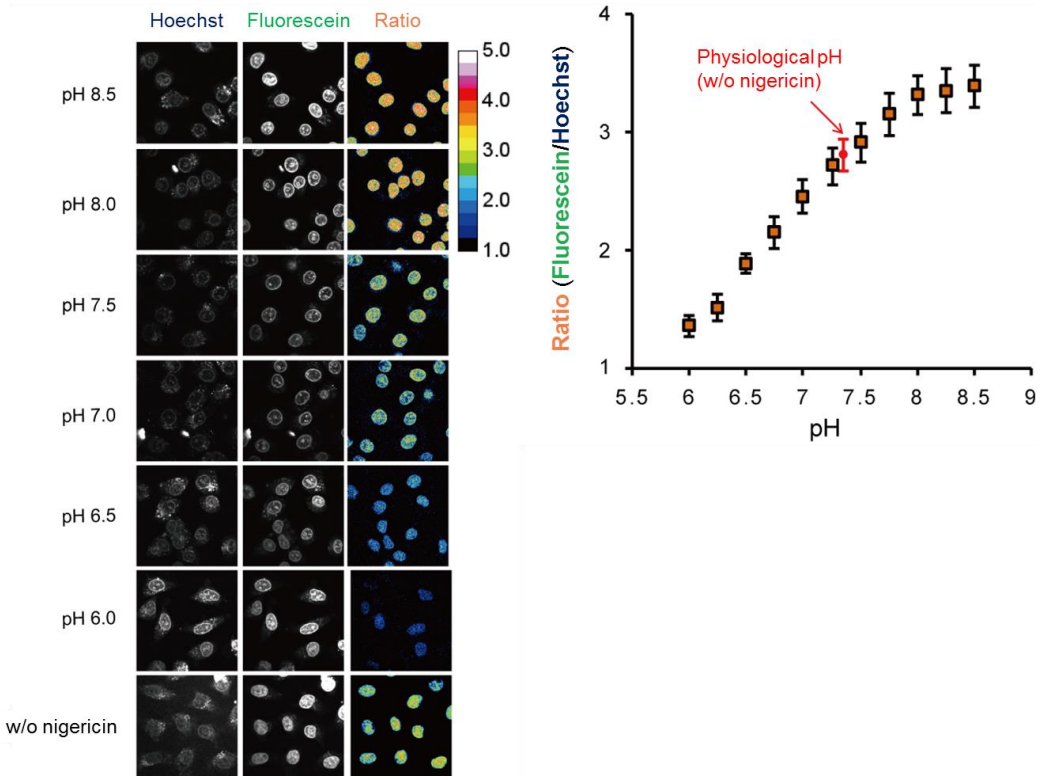


図 A2. pH 依存的な蛍光プロファイル

培養細胞（Hela 細胞）を 5 μM NucleoSeeing®で 15 分間インキュベートした後，洗浄を行い，各 pH の nigericin 含有 pH 標準バッファーで処理した細胞もしくは未処理の細胞の観察を共焦点顕微鏡により行い，励起光 405 nm における蛍光強度比（$F_{Fluorescein}$ / $F_{Hoechst}$）を測定した。
観察条件：励起波長 405 nm，検出 430 nm-510 nm (Hoecht フィルター),
検出 520 nm-620 nm（フルオレセインフィルター）

参考文献

1. Nakamura *et al.*, *Chem. Commun.*, **50**, 6149-6152 (2014) Hoechst tagging: a modular strategy to design synthetic fluorescent probes for live-cell nucleus imaging.
2. Ueda *et al.*, *ACS Cent. Sci.*, **3**, 462-472 (2017) Noncanonical function of a small-molecular virulence factor coronatine against plant immunity: an in vivo raman imaging approach.
3. Nakamura and Tsukiji, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 3127-3130 (2017) Ratiometric fluorescence imaging of nuclear pH in living cells using Hoechst-tagged fluorescein.

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、2019 年 1 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。

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

funakoshi
FRONTIERS IN LIFE SCIENCE

9-7 Hongo 2-Chome, Bunkyo-Ku
Tokyo 113-0033, Japan

NucleoSeeing™ <Live Nucleus Green>

Catalog NO. FDV-0029

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

Cell nucleus is one of the most important organelle which stores DNA and chromatin complex in eukaryotic cells and play important roles in various biological functions such as gene expression and epigenetic modulation. To monitor dynamics of cell nucleus in live cells, many cell nucleus-specific dyes have been developed. Hoechst33342 dye is one of the most famous dyes and is used for various applications because of its membrane permeable property. However, Hoechst33342 requires UV excitation (~350 nm) and has blue fluorescent property (~450 nm). As UV excitation shows strong photo-toxicity for cells, Hoechst33342 is not suitable for monitoring nucleus dynamics on live cells. Several visible-light excitable dyes for nucleus imaging on live cells had been commercially available, however, they have some disadvantages such as DNA/RNA specificity, or cell toxicity.

NucleoSeeing™ is a novel type of nucleus imaging probe in live cells (Ref.1). This probe has a unique chemical structure containing diacetyl-fluorescein and Hoechst33342 as DNA-binding tag linked by the optimal PEG linker. Although NucleoSeeing™ has two fluorophores, fluorescence of this probe is strongly quenched under no DNA conditions. Only in the presence of double stranded DNAs, it binds to DNA and emit fluorescence excited at 488 nm and detected at 520 nm (Figure 1). Based on this photoproperty, NucleoSeeing™ allows to monitor cell nucleus with highly S/N value against cytosol or other organelles. Furthermore, this probe specifically interacts with DNA same as Hoechst dyes. Compared with Hoechst33342, NucleoSeeing™ has advantages which are not only lower photo-toxicity, but also lower compound's cellular toxicity. Staining of various mammalian cultured cell lines and cultured mouse slice brain tissue were validated. Owing to its low photo- and cytotoxicity, long-term time lapse imaging (~20 hours) of nucleus and chromatin dynamics is well succeeded. Not only mammalian cells, but also some plant cells were tested, such as *Arabidopsis thaliana* Guard cells and epidermal cells (Ref.2). Although plant cells show autofluorescence derived from chloroplasts, NucleoSeeing™ could separate nucleus signal from autofluorescence signal from chloroplasts.

In addition to nucleus-specific imaging, NucleoSeeing™ can be applied for nucleus-specific pH sensing. A principle is based on pH-dependent fluorescent properties of fluorescein and Hoechst33342, components of NucleoSeeing™. When this probe is excited at 405 nm, values of fluorescent ratio ($F_{Fluorescein}/F_{Hoechst}$) depend on pH during pH5.5-8.5. This product is world-first commercially available nucleus-specific pH sensing reagent. Please find the "Appendix" for pH sensing.

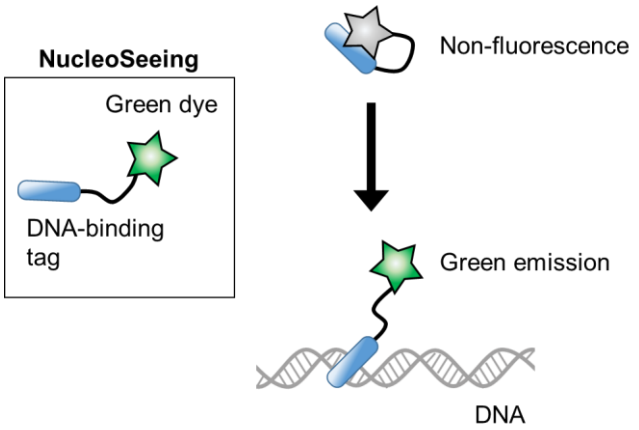


Figure 1. Overview of NucleoSeeing™

Description

Catalog Number : FDV-0029
Size : 0.1 mg
Molecular weight : 1425 g/mol as tri-TFA salt
Solubility : Soluble in DMSO
Fluorophore : Fluorescein (green fluorescent dye)
Ex/Em: 488 nm/520 nm
*FITC filter sets are available.

Application

- Live cell nucleus imaging of cultured cells, cultured tissues
- Live cell nucleus imaging of plant cells
- Cell nucleus staining of fixed cells
- Cell nucleus-specific pH sensing (See "Appendix")

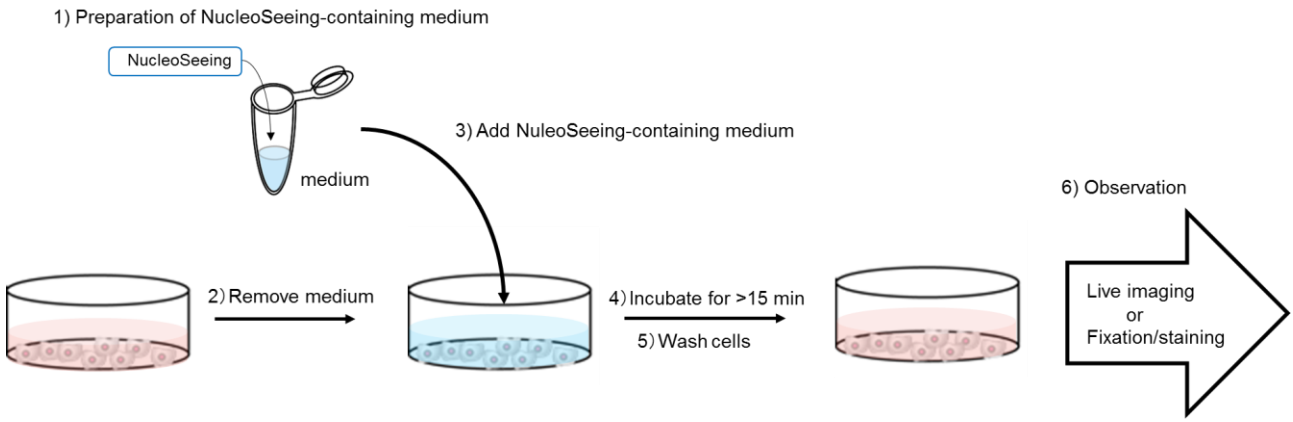
Reconstitution and Storage

Reconstitution : stock solution in 100% DMSO.
Storage (solution) :
Store powder at -20ºC.
After reconstitution in DMSO, aliquot and store at -20 °C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.
Protect from light.

How to use

General procedure of nucleus imaging

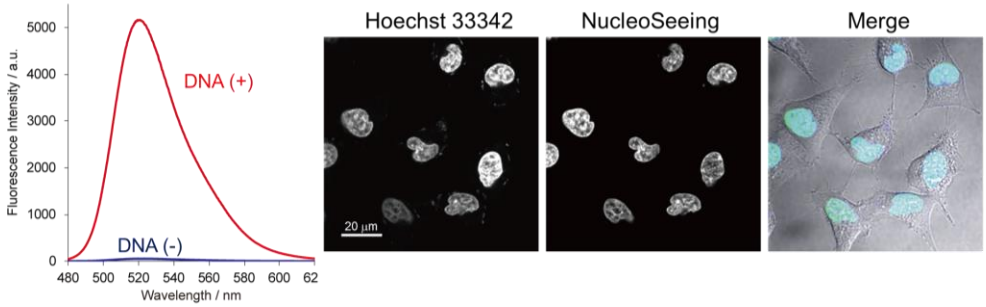
1. Prepare 1-20 µM NucleoSeeing™ in fresh medium
   NOTE: Please optimize concentration of reagent for your experiments. NucleoSeeing™ is compatible with FBS-containing medium. When the user NucleoSeeing™ in FBS-containing medium, relatively higher concentration (>5 µM) of NucleoSeeing™ is recommended. Detail is described in "**Application data**".
2. Remove culture medium
3. Add NucleoSeeing™ -containing medium to cells
4. Incubate cells at 37ºC for over 15 min
5. Wash cells by PBS or medium (Option)
   NOTE: For short-term observation, reversible staining or high sensitive detection, wash out is recommended. On the other hand, for long-term observation, no wash out/medium change is highly recommended.
6. Observe cells under live condition or after fixation by 4% PFA and methanol



Application data

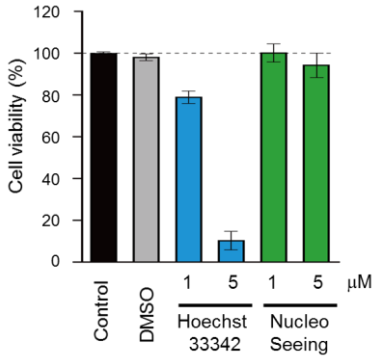
Basic information of NucleoSeeing™

Left: Fluorescent spectrum excited at 460 nm in the presence and absence of synthetic DNA. NucleoSeeing™ shows strong green emission only in the presence of DNA.
Light : Fluorescent imaging by conventional Hoechst33342 and NucleoSeeing™. NucleoSeeing™ is well overlapped with DNA-specific dye Hoechst33342.



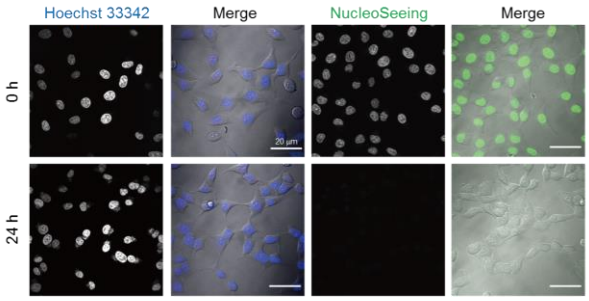
Cell toxicity

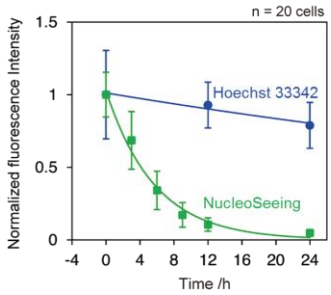
Cell toxicities of Hoechst33342 and NucleoSeeing™ were tested by the MTT assay. While Hoechst shows potent cell toxicity dose-dependent manner, NucleoSeeing™ keeps cell viability at least 5 µM.



Reversible staining of NucleoSeeing™

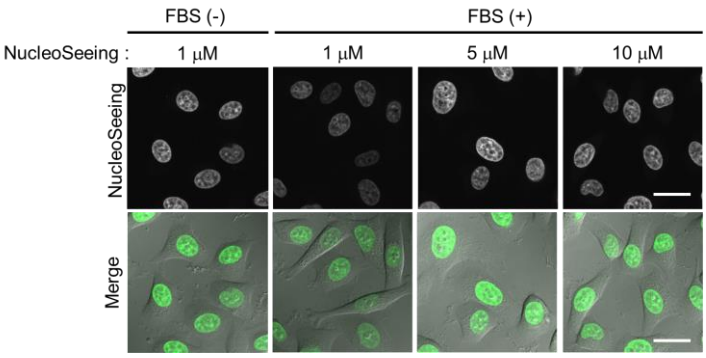
After HeLa cells were treated 1 µM Hoechst33342 and NucleoSeeing™ for 15 min, cells were washed by PBS and cultured for 24 hours. While over 80% of blue signal of Hoechst33342 was still remained, green signals of NucleoSeeing™ were dramatically reduced within 12 hours. NucleoSeeing™ can be used for reversible nucleus staining.





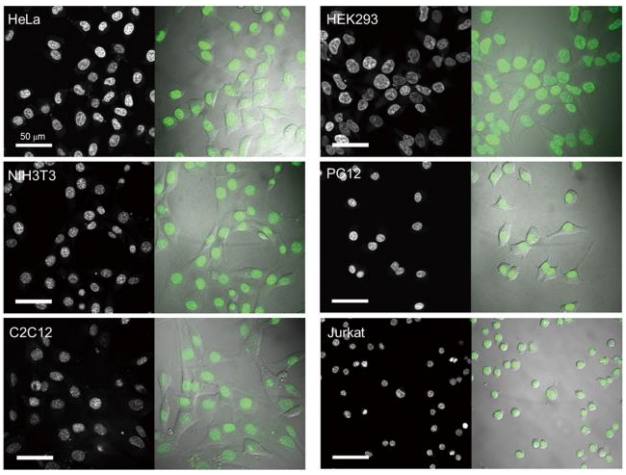
Influence of FBS on NucleoSeeing™ staining

To check any influence of FBS on nucleus staining by NucleoSeeing™, HeLa cells were treated 1 µM NucleoSeeing™ in serum-free medium or 1, 5, 10 µM NucleoSeeing™ in 10% FBS-containing media for 15 min. Images were acquired by confocal microscopy (Ex. 488/ Em. 500-600 nm) in the same condition (laser power and detection sensitivity). Compared with 1 µM in serum-free condition, nucleus fluorescent intensity stained by 1 µM with 10% FBS was partially reduced. Higher concentration such as 5 µM or 10 µM of NucleoSeeing™ in FBS condition recovered fluorescent intensity.



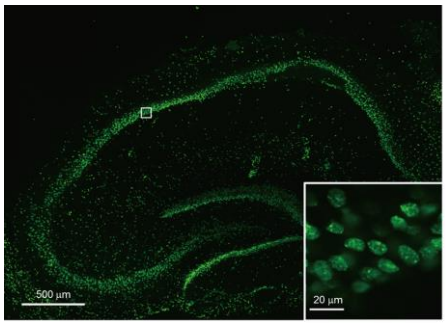
Staining of various mammalian cells

Six types of mammalian cell lines were treated with 1 μM NucleoSeeing™ for 15 min and observed in live cell condition.



Staining of cultured slice tissue

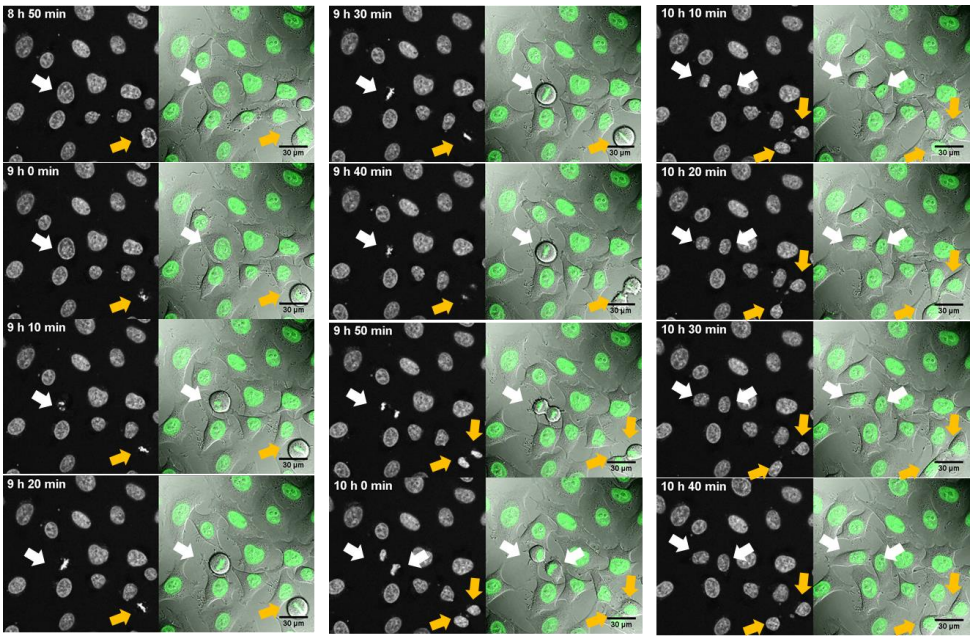
Cultured mouse hippocampal brain tissue was treated with 20 μM NucleoSeeing™ for 15 min and observed in non-fixed condition.



Long-term time lapse imaging of mitotic cells

HeLa cells on the glass bottom dish were treated with 0.5 μM NucleoSeeing™ in 10% FBS-containing DMEM for 1.5 hours. After treatment of NucleoSeeing™, cells were observed for 20 hours by confocal microscopy without any washout or medium change (Time lapse condition: Ex 488/Em 500-600 nm, 60x oil lens, 10 min interval). Several mitotic cells were observed (white and orange arrow indicated cells in the mitotic process).

*Movie data is available on our website.

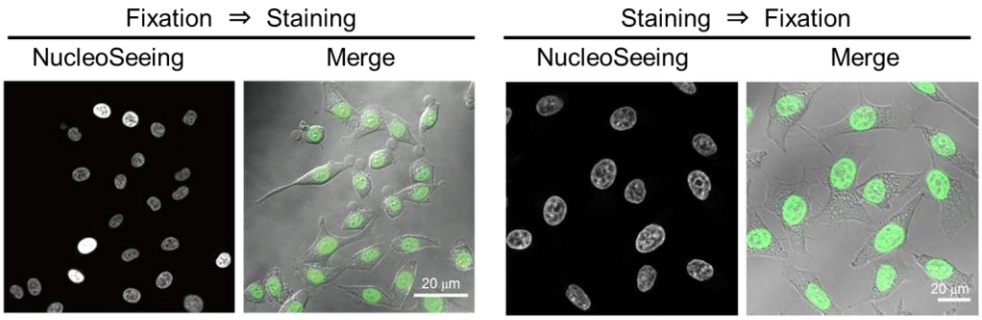


Staining of fixed cells

Left: Staining after fixation. PFA-fixed HeLa cells were treated by 1 μM NucleoSeeing™ for 15 min, washed by PBS and observed (Ex. 488 nm/ Em 520 nm).

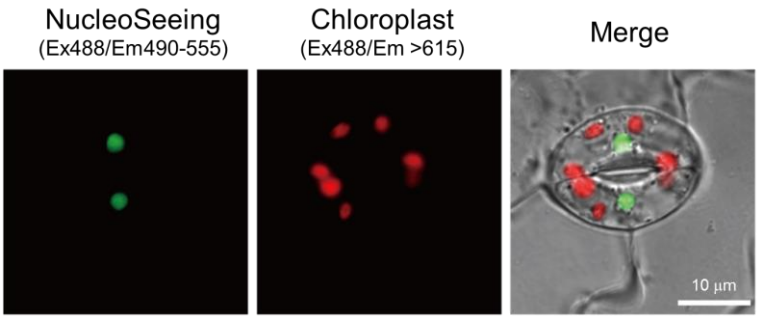
Right: Fixation after staining. HeLa cells were treated by 5 μM NucleoSeeing™ for 15 min in live cell condition. After wash the cells, the cells were fixed with 4% PFA. The cells were observed (Ex. 488 nm/ Em 520 nm).

NOTE: MeOH fixation is also validated but signal may be decreased before MeOH fixation.



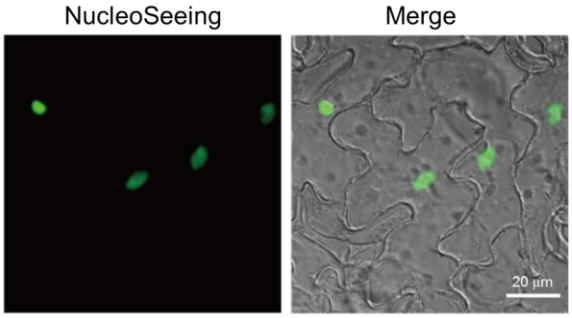
Staining of *Arabidopsis thaliana* Guard cells

Arabidopsis thaliana leaves were treated with 20 μM NucleoSeeing™ in 10 mM MES-KOH, 50 mM KCl (pH 6.2) buffer for 60 min and observed in living condition (Ex. 488 nm and Em. 490-555 nm for NucleoSeeing™, Em. >615 nm for chloroplast as autofluorescence). Green signals from NucleoSeeing™ were clearly separated from plant autofluorescence derived from chloroplast.



Staining of *Arabidopsis thaliana* epidermal cells

Arabidopsis thaliana leaves were treated with 20 μM NucleoSeeing™ in 10 mM MES-KOH, 50 mM KCl (pH 6.2) buffer for 60 min and observed in living condition. Ex. 488 nm and Em. 490-555 nm for NucleoSeeing™.



Appendix : Nucleus-specific pH sensing

Ref.3 showed NucleoSeeing™ can be used in nucleus-specific pH sensing in live cells. As cell nucleus is separated from cytosol by nuclear membrane with unique double lipid-bilayers, it is considered that the physical environment of nucleus is different from cytosol. Some evidences suggested that nuclear-specific proton pumps (H^+-ATPases) regulate intra-nuclear pH condition and may play important roles in nuclear physiology. However, research tools for monitoring nucleus pH sensing are limited.

Nucleus imaging by NucleoSeeing™, Ex. 488 nm/ Em. 520 nm is comfortable. In the case of nucleus-specific pH sensing, excitation at 405 nm and double detection at 520 nm and at 460 nm should be used. The ratio of fluorescent intensity (F_{520}/F_{460}) depends on pH (Figure A1). To monitor nucleus pH, cell-based control experiments with different pH buffer containing nigericin, a representative K^+/H^+-ionophore, required (Figure A2). Calibration curves should be obtained every experiments.

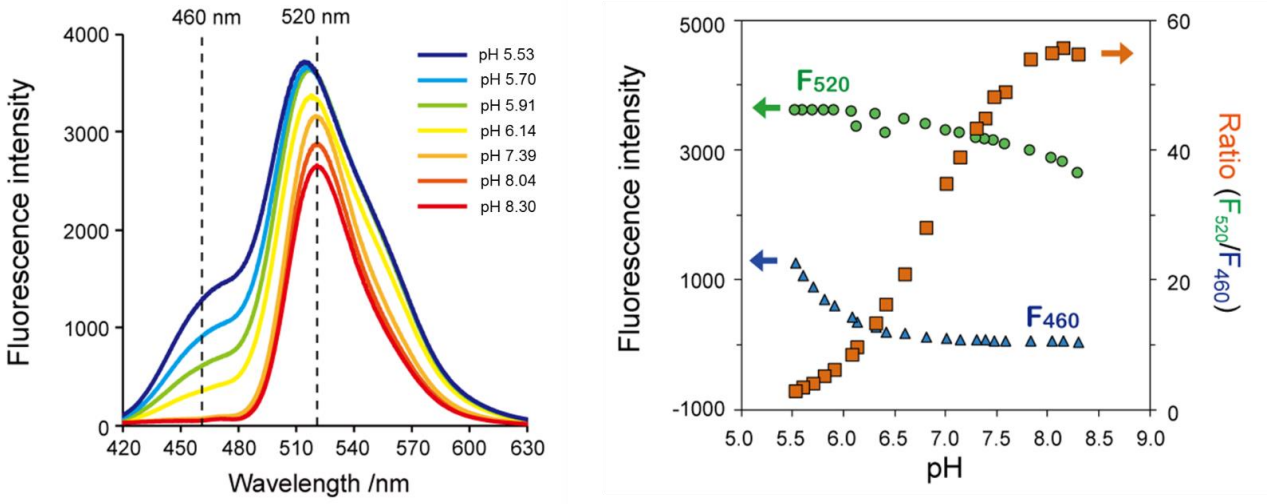


Figure A1 pH-dependent fluorescent profile

Left: Fluorescence spectral changes of synthetic intracellular form of NucleoSeeing™ (see "NOTE" below) with synthetic DNA upon pH change measured in 50 mM MOPS, 100 mM NaCl. Excitation at 405 nm.

Right: pH-dependent changes in the fluorescence intensity at 460 nm (F_{460}) and 520 nm (F_{520}), and the ratio (F_{520}/F_{460})

NOTE : NucleoSeeing™ containing hoechst33342-diacetylfluorescein is highly optimized for live cell imaging. It enters into cells and is rapidly deacetylated to hoechst33342-fluorescein by intracellular esterases. So, the deacetyl-form of NucleoSeeing™ is active probe for DNA staining. Figure A1 was obtained from "chemically synthesized deacetyl-form of NucleoSeeing™". Please note this data is not reproduced by using our NucleoSeeing™ itself *in vitro*.

Additionally required reagents

- nigericin (a representative K^+/H^+ ionophore)
- pH standard buffers (ex. 10 mM MOPS, 130 mM KCl, 10 mM NaCl, 1 mM $MgSO_4$) with pH range 5.5-8.5

How to use

1. Prepare pH-standard buffers for calibration curve (10 mM MOPS, 130 mM KCl, 10 mM NaCl, 1 mM $MgSO_4$) at pH 5.5-8.5 and 10 μg/ml nigericin -containing pH-standard buffers.
2. Cells were incubated with NucleoSeeing™ (1-10 μM) for 15 min
3. After wash cells twice with pH-standard buffers of the indicated pH, the cells were incubated with 10 μg/ml nigericin -containing pH-standard buffers at 37°C for 30 min
4. The cells were observed at Ex 405nm and Em 520 nm and 460 nm.

Data example

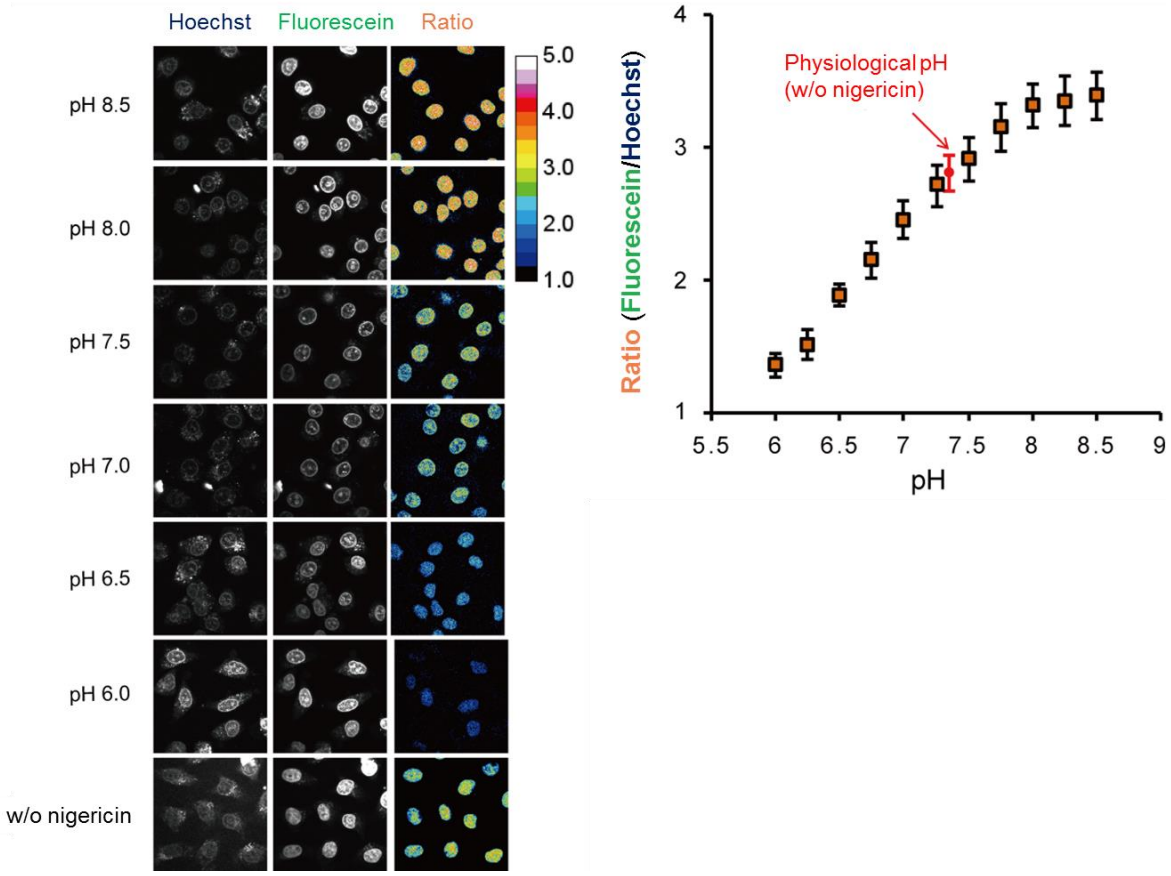


Figure A2 *in cellulo* ratiometric imaging

Cells were incubated with 5 μM NucleoSeeing™ for 15 min, washed and observed after nigericin-treatment at the indicated pH or directly as intact cells. Excitation at 405 nm and detection at 430-510 nm as Hoechst filter and 520-620 nm as Fluorescein filter.

Reference

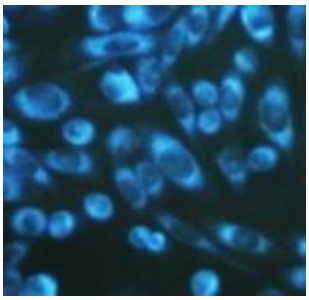
1. Nakamura *et al., Chem. Commun.*, **50**, 6149-6152 (2014) Hoechst tagging: a modular strategy to design synthetic fluorescent probes for live-cell nucleus imaging.
2. Ueda *et al., ACS Cent. Sci.*, **3**, 462-472 (2017) Noncanonical function of a small-molecular virulence factor coronatine against plant immunity: an in vivo raman imaging approach.
3. Nakamura and Tsukiji, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **27**, 3127-3130 (2017) Ratiometric fluorescence imaging of nuclear pH in living cells using Hoechst-tagged fluorescein.

Related products

CytoSeeing™ <Reversible Cytoplasm Blue>

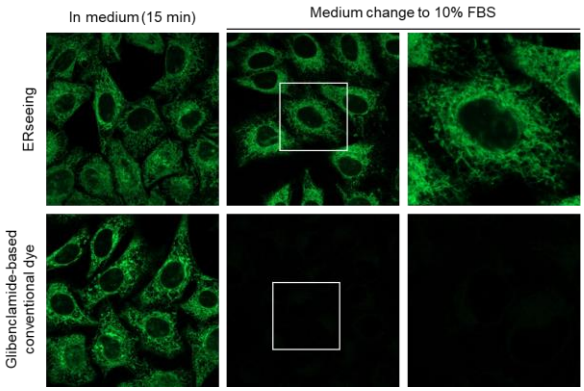
CytoSeeing™ is a blue and reversible cytoplasm-staining dye for monitoring cell morphology. It allow to observe cell structure and to reuse the cells after removing dyes.

Catalog No. FDV-0017
Size 1 mg
Features
- Easy and quick staining less than 10 min
- Washable, reversible staining
- Validated for both adherent cells and floating cells
- Little influence on cellular functions
- Ex/Em: 345 nm/456 nm (commercial DAPI filters are available)



ERseeing™ <Endoplasmic reticulum Green>

ERseeing™ is a novel type of ER-staining dye and shows little pharmacological effects compared with conventional glibenclamide-based ER dyes. ERseeing™ is irreversible staining and is compatible with medium change for long-term imaging.



Catalog No. FDV-0038
Size 10 nmol
Features
- Recommended Ex/Em: 509 nm/524 nm
- Lless pharmacological effect on ER proteins
- Suitable for long-term live cell imaging

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 January, 2019. 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、2019 年 1 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

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