

神経活動に応じた膜電位変化をイメージング観察できます

Ap3, SHG Imaging Dye



Ap3 は、SHG シグナルイメージングで蛍光ノイズを発しない、世界初の**無蛍光性 SHG 色素**であり、光安定性が極めて高い化合物です。無蛍光性のため、SHG イメージングと同時に蛍光性色素を用いたカルシウムイメージングを行うなど、**マルチモダル・イメージングが可能**です。

※本製品は、慶應義塾大学医学部 薬理学教室、並びに筑波大学数理物質系（学際物質科学研究センター）の研究成果をもとにフナコシ（株）が製品化し、販売しています。

原著論文 Nuriya, M., et al., *Nat. Commun.*, **7**, 11557 (2016). [PMID: 27156702]
 Mizuguchi, T., et al., *iScience*, **9**, 359~366 (2018). [PMID: 30466062]

ここがすごい

SHG (Second Harmonic Generation : 光第二高調波発生) は、グリーンレーザー (ポインター) の赤色レーザー光から緑色レーザー光への変換にも使われるごく一般的な原理ですが、生命科学での応用はまだ未開拓です。SHG イメージングは**新たな細胞構造や機能の解明に役立つ強力なイメージング手法として注目**されています。例えば、**神経細胞を SHG イメージングで観察すると、これまで計測が困難であった神経細胞のスパインや軸索での膜電位計測が可能**です。しかし、SHG イメージングに使用されてきた従来の色素は蛍光観察用に開発されたもので、その蛍光は SHG イメージングにおいてノイズとなるほか、光褪色や光毒性など多くの問題がありました。

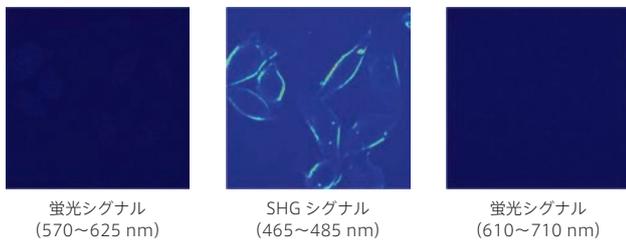
Ap3 は、世界初の無蛍光性 SHG 専用色素であり、これを他の蛍光色素と併せて用いることにより、生命現象を多面的に捉えるマルチモダル 2 光子顕微鏡観察が可能となり、生命科学の新たなツールとして期待されます。

特長

- 細胞膜を可視化し、膜電位変化を捉え、同時に蛍光タンパク質の挙動やレポーター蛍光色素のシグナル変化の長期的なイメージングが可能です。
- 従来 SHG イメージングに用いられてきた FM4-64 に比べ、光毒性が大幅に軽減されます。
- レーザー照射 : 950 nm / SHG シグナル検出 : 465~485 nm
- ※SHG イメージングには、2 光子励起顕微鏡と、SHG シグナル用のフィルターが必要です。
- ※SHG シグナルの観察には、対物レンズの反対側 (正立顕微鏡の場合は下部) に検出系が必要です。また、検出系側に電子増倍管 (PMT) がある顕微鏡の使用を推奨します。

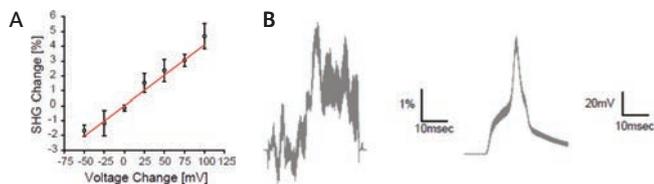
品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格 (¥)
Ap3, SHG Imaging Dye	FNA	FDV-0008	1 mg / 40,000

使用例



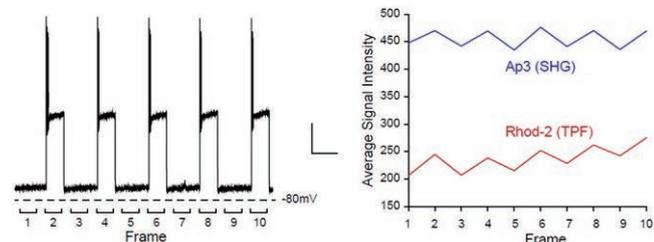
Ap3 の SHG シグナルと無蛍光性

Ap3 により SHG シグナルは観察されるが、蛍光シグナルは観察されない。



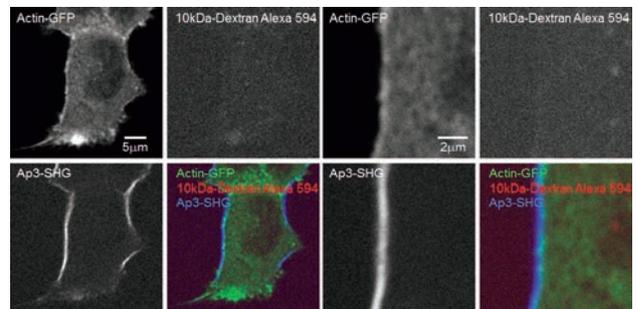
脳スライスでの SHG イメージングによる膜電位変化

A : 電圧固定による SHG シグナルの膜電位感受性。
 B : 活動電位に依存した SHG シグナル変化 (左) と、パッチクランプによる電位変化の計測。
 Nuriya, M., et al., *Nat. Commun.*, **7**, 11557 (2016).



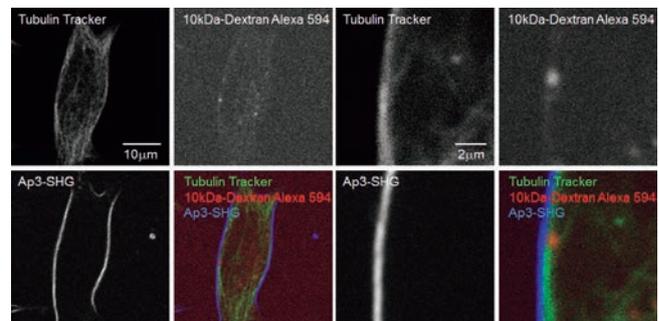
脳スライスでの SHG イメージングによる膜電位変化と Rhod-2-TPF によるカルシウム濃度の同時計測

膜電位変化とカルシウム濃度変化が同時に計測される。
 Nuriya, M., et al., *Nat. Commun.*, **7**, 11557 (2016).



マルチモダル 2 光子顕微鏡を用いた形質膜直下の小胞動態とアクチンの解析

形質膜特異的でありかつ蛍光シグナルと完全に分離可能な Ap3-SHG による形質膜位置の正確な同定から、形質膜からアクチン骨格までの正確な距離の計測が可能となる。



マルチモダル 2 光子顕微鏡を用いた形質膜直下の小胞動態とチューブリンの解析

形質膜特異的でありかつ蛍光シグナルと完全に分離可能な Ap3-SHG による形質膜位置の正確な同定から、形質膜から微小管、また、形質膜の直下で動く小胞までの正確な距離の計測が可能となる。