

FerroFarRed (Fe²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5888-50nmol	FerroFarRed (Fe ²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针	50nmol
NBS5888-100nmol	FerroFarRed (Fe ²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针	100nmol
NBS5888-S-50nmol	FerroFarRed (Fe ²⁺ indicator) (1mM in DMSO) 亚铁离子荧光探针	50nmol

产品简介:

FerroFarRed, 也称为 SiRhoNox-1、ER-SiRhoNox, 是一种特异性检测不稳定的铁(II)离子 (Fe²⁺) 的荧光探针。FerroFarRed 基本无荧光, 一旦与 Fe²⁺ 反应后, 不可逆的生成一种远红荧光产物 (Absmax=646nm, FLmax=662nm, 图 1. FerroFarRed 的光谱特征)。生理浓度下的铁 (III) 离子 (Fe³⁺) 或其它除铁离子以外的二价金属离子都不会使其荧光增强 (见图 2. FerroFarRed 的金属离子反应特异性)。FerroFarRed 具细胞膜渗透性和高选择性, 且在高达 100 μ M 的浓度下对细胞几乎无毒性, 适用于活细胞内 Fe²⁺ 的检测, 倾向定位在内质网 (ER)。适用于荧光显微镜、共聚焦显微镜、荧光酶标仪以及流式细胞仪 (配置红色激光器) 分析。

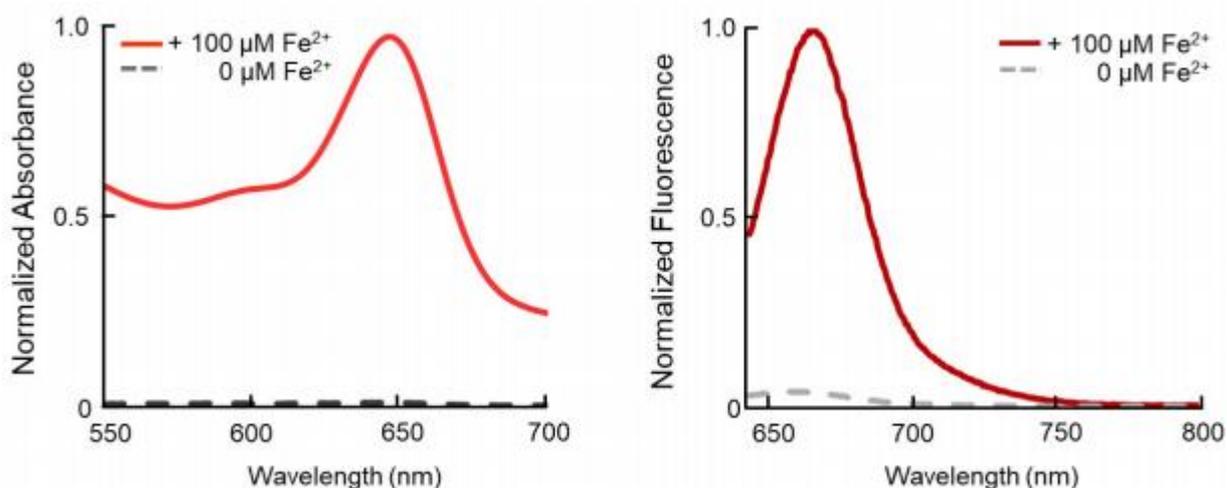


图 1. FerroFarRed 的光谱特征。 FerroFarRed 在 0.05M HEPES buffer, pH 7.4 下的吸收光谱 (左) 和荧光光谱 (右)。FerroFarRed 的最大吸收波长在 646nm, 而最大荧光波长在 662nm。

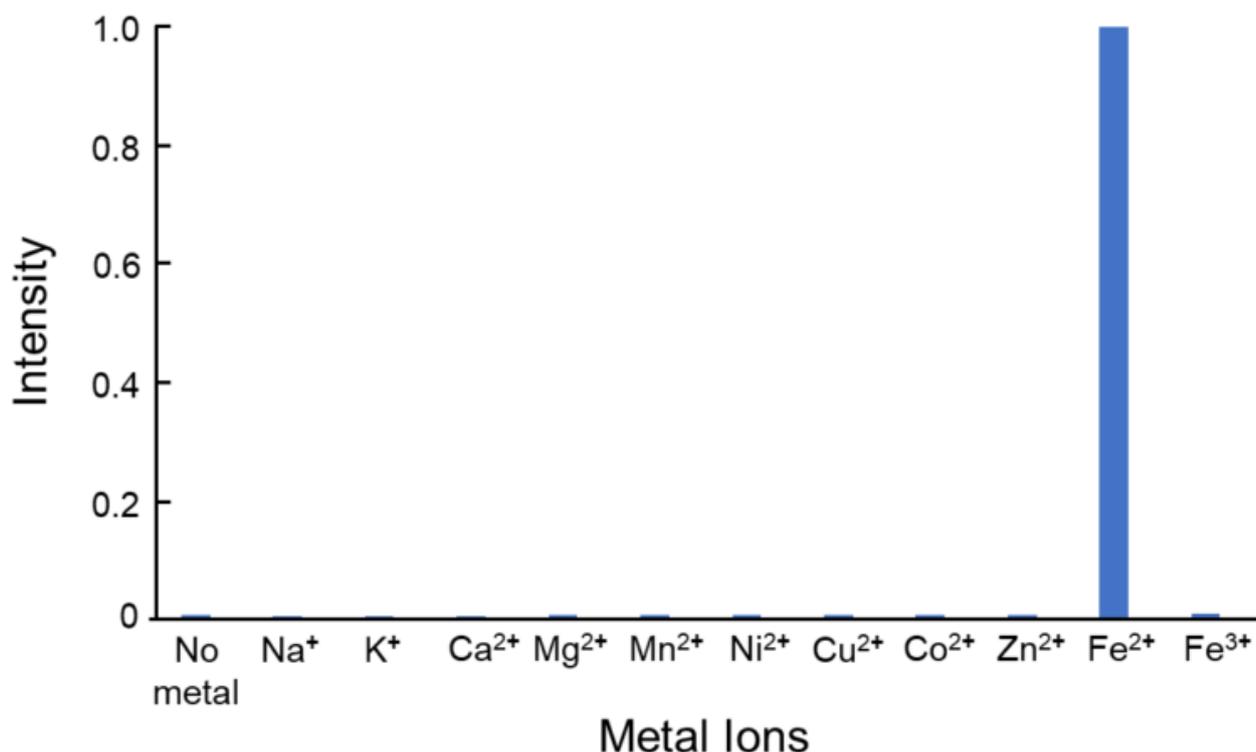


图 2. FerroFarRed 的金属离子反应特异性。 FerroFarRed (5 μM) 与各种金属离子反应后, 用荧光酶标仪测定荧光强度 (激发波长: 630nm, 发射波长 665nm)。可见, 仅与 Fe^{2+} 反应后发生显著的荧光增强。

保存条件:

-20°C 避光干燥保存, 至少 1 年有效。

产品使用:

一、需要自行准备的材料

- 1.1 细胞培养级或超纯 DMSO 【强烈建议将高纯的 DMSO 分装成单次用量保存在极低温冷冻室内, 比如 -80°C, 避免吸潮。降解的 DMSO 可能会增加 FerroFarRed 的背景信号】
- 1.2 合适的观察缓冲液 (比如: PBS, pH 7.4; HBSS; 等)。不要含酚红。
- 1.3 无血清细胞培养基 (D-MEM 等)

二、探针准备

- 2.1 从冰箱取出 FerroFarRed, 置于室温回温至少 30min, 将其置于微量离心机内低速离心。将瓶内的粉末离心到管底后, 再开盖。
- 2.2 往一管 FerroFarRed (50nmol) 内加入 50 μl 高质量 DMSO, 用枪反复吹吸 5 次或以上, 使其完全溶解即得到 1mM FerroFarRed 储存液。【注意: FerroFarRed 是蓝色固体, 但

溶液几乎无色（浅蓝色】。建议单次用完储存液，若实在用不完，请根据单次用量分装，置于-80℃避光保存。用中性缓冲液来稀释储存液。

三、HeLa 细胞 Fe²⁺的染色步骤（荧光成像分析）

3.1 在玻底培养皿内接种细胞，培养过夜。

3.2 从培养皿内吸走培养基，用合适的观察缓冲液（比如：HBSS）清洗两次。

3.3 用无血清细胞培养基稀释 1uM FerroFarRed 储存液，制备成 5mM 的染色工作液。

3.4 将染色工作液加入培养皿内，于 37℃孵育 1h。

【注意：①建议根据细胞类型和自身实际需求优化工作浓度和孵育时间。②如果细胞很容易从培养皿上脱落，建议使用多聚 L-赖氨酸或其它包被基质包被的培养皿来接种细胞。】

3.5 染色后用观察缓冲液（比如：HBSS）清洗一次，替换成新的观察缓冲液。

3.6 在荧光显微镜下观察细胞。

四、HepG2 细胞 Fe²⁺的测定（流式分析）

4.1 于多孔培养板内接种细胞，过夜培养。

4.2 从培养板内吸走培养基，用合适的观察缓冲液（比如：HBSS）轻轻的清洗两次。

4.3 用无血清细胞培养基稀释 1uM FerroFarRed 储存液，制备成 5mM 的染色工作液。

4.4 将染色工作液加入培养板内，于 37℃孵育 1h。

【注意：建议根据细胞类型和自身实际需求优化工作浓度和孵育时间。】

4.5 染色后，用 PBS 清洗一次，之后加入 0.25% 胰酶-EDTA 消化细胞。

4.6 于冰上用 PBS 稀释 0.25% 胰酶-EDTA，之后 500 x g 离心细胞悬液 5min，以沉淀细胞。

【注意：不可用血清来中和胰酶。】

4.7 吸走上清，用 PBS 重悬细胞。

4.8 用细胞筛网（40μm 尼龙筛网）过滤细胞，去除细胞碎片。

4.9 上机，流式细胞仪分析。

五、荧光检测

对于激光激发：635nm 波长左右的激光器比较适合。荧光在 660nm 左右观察。

对于荧光显微镜观察：选择检测 Cy5 的红色激发滤片。对于流式分析，选择检测 APC 的滤片。

注意事项:

1. FerroFarRed 倾向定位在内质网, 但也可能检测细胞质池内的 Fe^{2+} , 目前针对这一点未做明确评估。
2. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS5878-5mg</u>	<u>Ferrostatin-1 铁死亡抑制剂</u>	5mg
<u>NBS5879-1mg</u>	<u>Erastin 爱拉斯汀 (铁死亡激活剂)</u>	1mg
<u>NBS5880-10mg</u>	<u>(1S,3R)-RSL3 (GPx4 inhibitor)谷胱甘肽过氧化物酶 4 抑制剂</u>	10mg
<u>NBS5881-1mg</u>	<u>BCP-T.A. (Ferroptosis inducer)铁死亡诱导剂</u>	1mg
<u>NBS5882-2mg</u>	<u>Liproxstatin-1 铁死亡抑制剂</u>	2mg
<u>NBS5883-1g</u>	<u>Deferiprone (DFP)去铁酮 (铁螯合剂)</u>	1g
<u>NBS5884-25mg</u>	<u>Deferoxamine Mesylate 甲磺酸去铁胺 (铁螯合剂)</u>	25mg
<u>NBS5885-1mg</u>	<u>FINO2(Ferroptosis inducer)铁死亡诱导剂</u>	1mg
<u>NBS5886-50ug</u>	<u>FeRhoNox-1 (Fe²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针</u>	50ug
<u>NBS5887-24ug</u>	<u>FerroOrange (Fe²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针</u>	24ug
<u>NBS5888-50nmol</u>	<u>FerroFarRed (Fe²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针</u>	50nmol