五稜化薬の鉄イオン検出プローブ

鉄イオン検出プローブ

型番	製品名	容量	Abs_{max} (nm)	FL_{max} (nm)	希望小売価格(円)	備考・用途
GC901	FeRhoNox™-1	50 μg × 10	540	575	49,800	Fe^{2+} の検出に。
GC904-01	FerroOrange	35 nmol × 5	542	572	49,800	Fe^{2+} の検出に。 より高感度に、安定性も向上しました。
GC904-02	FerroOrange	35 nmol × 1	542	572	13,000	Fe^{2+} の検出に。 より高感度に、安定性も向上しました。
GC903-01	FerroFarRed™	50 nmol × 5	646	662	49,800	長波長の Fe^{2+} 検出プローブ。

関連試薬

型番	製品名	容量	Abs_{max} (nm)	FL_{max} (nm)	希望小売価格(円)	備考・用途
GC902	CopperGREEN™	50 nmol × 5	440 - 480	510	49,800	Cu^{+} の検出に。
SK2001-01	ZnAF-2	1 mg	492	514	25,000	Zn^{2+} の検出に。
SK2002-01	ZnAF-2 DA	1 mg	492	514	25,000	細胞内の Zn^{2+} の検出に。
GC309	AcidiFluor™ ORANGE-Transferrin	1 mg	535	560	59,800	エンドサイトーシスの解析に。
GC3004-01	OxiORANGE™	100 nmol × 5	553	577	49,800	ヒドロキシラジカル (・OH)、 次亜塩素酸 (HClO) の検出に。
GC3007-01	HYDROP™	30 nmol × 3	492	518	39,800	細胞内の過酸化水素 (H_2O_2) の検出に。
SK3001-01	Hydroxyphenyl Fluorescein (HPF)	1 mg (DMF 溶液)	490	515	30,000	ヒドロキシラジカル (・OH)、 パーオキシナイトライト ($ONOO^-$) の検出に。
SK3002-01	Aminophenyl Fluorescein (APF)	1 mg (DMF 溶液)	490	515	30,000	ヒドロキシラジカル (・OH)、パーオキシナイトライト ($ONOO^-$)、次亜塩素酸 (HClO) の検出に。
A401-1	QuicGSH3.0	25 nmol × 5	520 - 550	582 / 625	69,800	還元型グルタチオンの定量に。
A101-01	MAR	25 μg × 5	498	520	49,800	低酸素応答性蛍光試薬。簡便でライブセルイメージング可能。スフェロイドにも。

References

FeRhoNox-1™
※FeRhoNox™-1 corresponds to RhoNox-1 in the reference.
B. Hassannia, B. Wiernicki, I. Ingold, F. Qu, S. V. Herck, Y. Y. Tyurina, H. Bayır, B. A. Abhari, J. P. F. Angeli, S. M. Choi, E. Meul, K. Heyninck, K. Declerck, C. S. Chirumamilla, M. Lahtela-Kakkonen, G. V. Camp, D. V. Krysko, P. G. Ekert, S. Fulda, B. G. D. Geest, M. Conrad, V. E. Kagan, W. V. Berghe, P. Vandenabeele, T. V. Berghe (2018) *J. Clin. Invest.* **128**: 3341-3355 DOI:10.1172/JCI99032

N. D. Rocasolano, O. MartíSistac, J. Ponce, M. C. Ruiz, M. Millán, V. Guirao, I. G. Yébenes, J. B. Salom, P. R. Cabrer, E. Alborch, I. Lizasoain, J. Castillo, A. Dávalos, T. Gasull (2018) *Redox Biol.* **15**: 143-158 DOI:10.1016/j.redox.2017.11.026

T. Aron, A. G. Reeves, C. J. Chang. (2018) *Curr. Opin. Chem. Biol.* **43**: 113-118 DOI:10.1016/j.cbpa.2017.12.010

F. Ito, T. Nishiyama, L. Shi, M. Mori, T. Hirayama, H. Nagasawa, H. Yasui, S. Toyokuni (2016) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **476**: 600-606 DOI:10.1016/j.bbrc.2016.06.003

Y. Wang, Y. Okazaki, L. Shi, H. Kohda, M. Tanaka, K. Taki, T. Nishioka, T. Hirayama, H. Nagasawa, Y. Yamashita, S. Toyokuni (2015) *Cancer Sci.* **107**: 250-257 DOI:10.1111/cas.12865

T. Hirayama, K. Okuda, H. Nagasawa (2013) *Chem. Sci.* **4**: 1250-1256 DOI:10.1039/C2SC21649C

FerroFarRed™
※FerroFarRed™ corresponds to SiRhoNox-1 in the reference.
※ 下記論文でFerroptosisについての記載がございます。
T. Hirayama, A. Miki, H. Nagasawa (2018) *Metallomics*. in press DOI: 10.1039/c8mt00212f

K. Sakamoto, T. Suzuki, K. Takahashi, T. Koguchi, T. Hirayama, A. Mori, T. Nakahara, H. Nagasawa, K. Ishii (2018) *Exp. Eye Res.* **171**: 30-36 DOI: 10.1016/j.exer.2018.03.008

T. Hirayama, H. Tsuboi, M. Niwa, A. Miki, S. Kadota, Y. Ikeshita, K. Okuda, H. Nagasawa (2017) *Chem. Sci.* **8**: 4858-4866 DOI: 10.1039/c6sc05457a

五稜化薬のHPで実験の詳細や参考文献を多数公開しています。
https://goryochemical.com/product-category/metallofluor-series/

五稜化薬　metallofluor →

営光色素の専業メーカー
五稜化薬株式会社
〒060-0008 札幌市中央区 北8条 西18丁目 35番地100 エアリービル5階
TEL：011-624-5860　FAX: 011-351-1822
MAIL：info@goryochemical.com　URL：https://www.goryochemical.com

取扱店

FL0075GR 2019/01

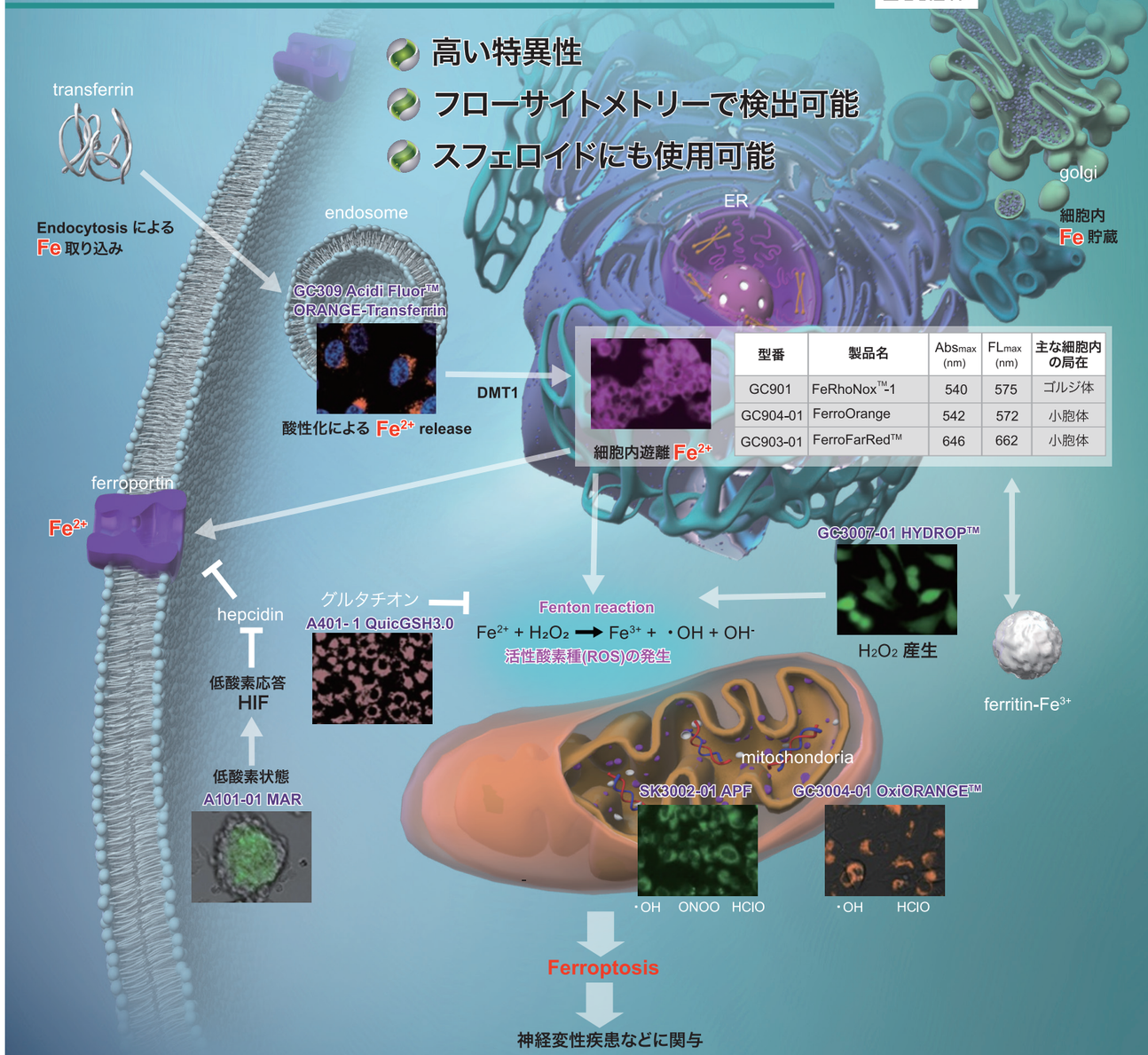
魅せる蛍光、五稜化薬。

五稜化薬の 鉄イオン 検出プローブ

ライブセルイメージング用

MetalloFluor™ Series

- 高い特異性
- フローサイトメトリーで検出可能
- スフェロイドにも使用可能



表紙：Fe 関連現象の蛍光プローブによるイメージング

営光色素の専業メーカー
五稜化薬株式会社
〒060-0008 札幌市中央区 北8条 西18丁目 35番地100 エアリービル5階
TEL：011-624-5860　FAX: 011-351-1822
MAIL：info@goryochemical.com　URL：https://www.goryochemical.com

- 購読者様限定キャンペーン
- 新製品リリース情報 など

月一回程度お届けします！

五稜化薬　メールニュース

鉄はイオンの価数が変化する遷移金属で、二価イオン (Fe^{2+}) と三価イオン (Fe^{3+}) の両方の型を行き来することで電子移動を伴う生体反応を媒介します (レドックス活性)。特に、細胞内の Fe^{2+} は過酸化水素と反応し、活性酸素種 (ROS: reactive oxygen species) のひとつヒドロキシラジカル (·OH) を産生します (フェントン反応)。過剰な ROS 産生は酸化ストレスを引き起こし、がんや神経変性疾患との関連が報告されていることから、細胞内 Fe^{2+} の生理機能と疾患との相関の解明が求められています。五稜化薬の 鉄イオン検出プローブ は Fe^{2+} と高い特異性で反応し、不安定な細胞内 Fe^{2+} を安定な蛍光シグナルとして検出することが可能です。

特徴1 各活性酸素種を特異的に検出

FeRhoNox™-1

論文実績も多数掲載！

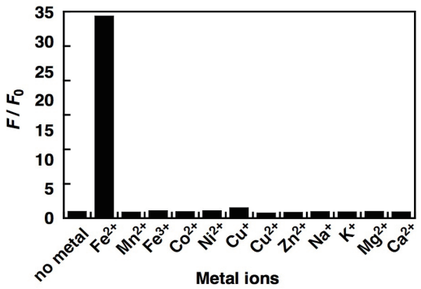


図1. さまざまな金属イオンに対する FeRhoNox™-1 の反応性
FeRhoNox™-1 は Fe^{2+} 存在下では N-オキシド化された第3級アミンが還元され、強蛍光体に変化します。これにより Fe^{2+} に対する高い選択性が実現しました。Fe^{3+} やその他の金属イオンとほとんど反応しません。
励起波長 540 nm, 測定波長 575 nm
反応条件：2 μM, 37℃, 1 時間

特徴2 フローサイトメトリーで検出可能

FerroFarRed™

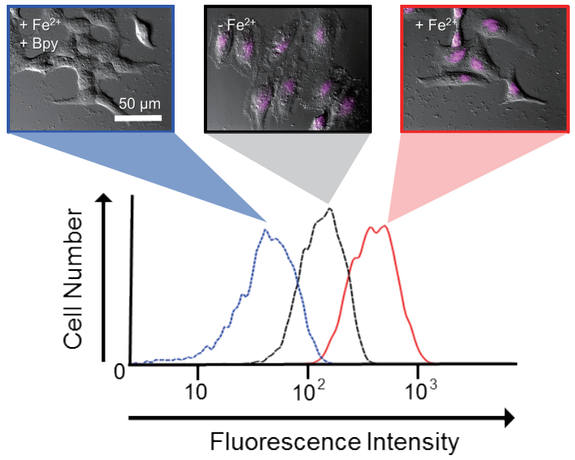


図2. FerroFarRed で染色した HepG2 細胞のフローサイトメーターで取得したヒストグラム
HepG2 細胞を FerroFarRed を含む各条件の無血清培地で培養し、フローサイトメトリーを実施しました。キレート剤を添加した細胞は Fe^{2+} 添加なしの細胞より蛍光強度が低く、FerroFarRed は生理的な濃度の細胞内 Fe^{2+} も検出することが示されました。
励起波長 640 nm, 蛍光フィルター APC (Allophycocyanin)
反応条件：5 μM, 37℃, 1 時間

青：Fe^{2+} およびキレート剤添加
黒：Fe^{2+} 添加なし
赤：Fe^{2+} 添加
Bpy: Fe^{2+} chelator

特徴3 スフェロイドにも使用可能

FerroOrange

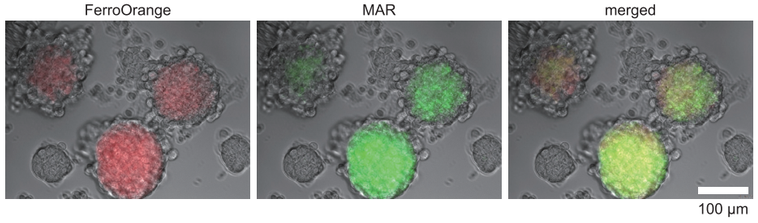


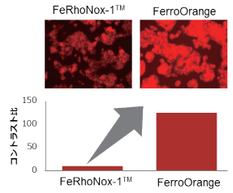
図3. HepG2 スフェロイドを用いた FerroOrange とハイポキシア検出試薬 MAR の共染色
スフェロイド内部は MAR (A101-01) により低酸素環境 (ハイポキシア) であることが示され、また FerroOrange により同範囲における Fe^{2+} の蓄積が検出されました。FerroOrange はスフェロイド内部の Fe^{2+} 検出にも有効です。
反応条件：1 μM, 37℃, 5% CO_2 4 時間

掲載の金属イオン検出プローブ (FeRhoNox™-1, FerroFarRed, FerroOrange) は岐阜薬科大学　創薬化学講座　薬化学研究室　平山佑先生のご指導の下、五稜化薬株式会社が製品化しました。

五稜化薬の鉄イオン検出蛍光プローブ

FerroOrange と FeRhoNox™-1 の比較

これまで多くの論文でご使用いただいている FeRhoNox™-1 ですが、新製品の FerroOrange ではより感度が高く、安定性も向上しています。両製品の使用方法や波長はほぼ同じですので、そのまま Rhodamine 検出フィルターが使用可能です。



蛍光特性	FeRhoNox™-1	FerroOrange
Abs_{max} (nm)	540	542
FL_{max} (nm)	575	572

図4. FeRhoNox-1™ と FerroOrange の比較
従来品 (FeRhoNox™-1) と比べ、FerroOrange では、Fe^{2+}存在下 / 非存在下のコントラスト比が大きく向上しました (約11倍)。

アプリケーション例

FerroOrange による Ferroptosis 検出 (ROS 検出試薬との共染色)

Ferroptosis は Fe^{2+} 依存的な細胞死であることが特長です。過剰な Fe^{2+} により ROS や過酸化脂質などが発生し、apoptosis や necroptosis とも異なる経路で細胞死に至ります。種々の神経変性疾患の神経細胞死は ferroptosis であることや、がん細胞は ferroptosis 抵抗性であることが明らかになってきており、注目が集まっています。

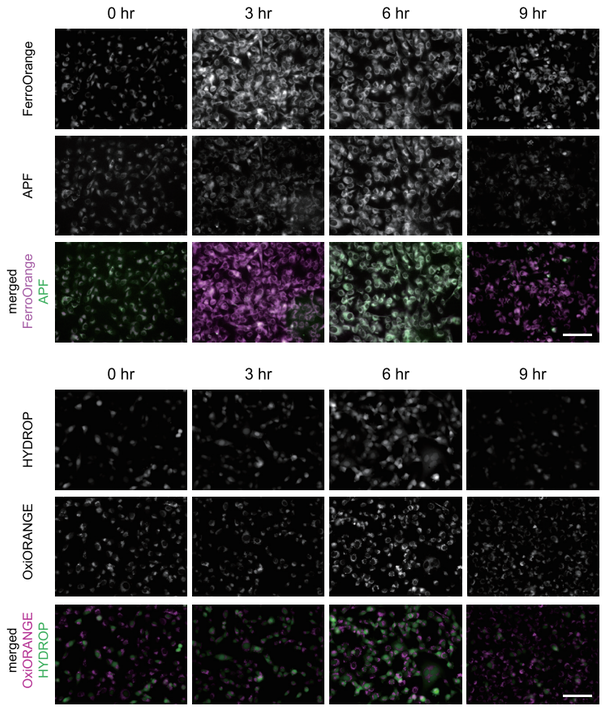


図5.
HT-1080 細胞に 30 μM の erastin を投与して ferroptosis を誘導させ、3, 6, 9 時間後の Fe^{2+} の変化、および ROS の変化を APF (SK3002-01), OxiORANGE (GC3004-01), HYDROP (GC3007-01) を用いて蛍光顕微鏡下で検討しました。
その結果、FerroOrange の蛍光は erastin 刺激後 3 時間をピークに上昇し、その後減少していました。一方、APF, OxiORANGE, HYDROP の蛍光は、erastin 刺激後 6 時間をピークに上昇し、その後減少していました。このように FerroOrange と ROSFluor™ Series との併用することで ferroptosis 誘導時に発生する Fe^{2+} の変化、および ROS の変化を同時にモニターできます。

【ROSFluor™ Series の検出対象】
APF: ·OH, $ONOO^-$, HClO
OxiORANGE: ·OH, HClO
HYDROP: H_2O_2

※これらのプローブは不可逆的な反応で蛍光を生じるので、一旦蛍光が上昇するとその後ターゲットの量が減少してもその様子が捕らえられません。その為、今回の実験では各検討時間の 30 分前にプローブを投与しました。

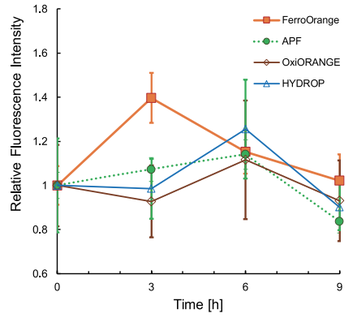


図6. 画像より得られた蛍光強度を数値化したグラフ
上記の画像で得られた細胞ごとの蛍光を ImageJ により解析し、グラフにしました。(n>110; ±S. D.)