

FeRhoNox™-1

表 1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
GC901	FeRhoNox-1	50 µg × 10 本	湿気を避け、遮光冷凍保存 DMSO 溶解後は使い切り	未開封で約 1 年

1. FeRhoNox™-1 について

FeRhoNox™-1 (RhoNox-1) は遊離鉄 (II) イオン (Fe^{2+}) を検出可能なアクティブイタブル蛍光プローブです。 Fe^{2+} と反応して非可逆的にオレンジ～赤色の蛍光を発します。生理的に存在する他のイオンには反応せず、遊離鉄 (II) イオンのみを特異的に検出します。細胞中ではゴルジに局在する性質があります。

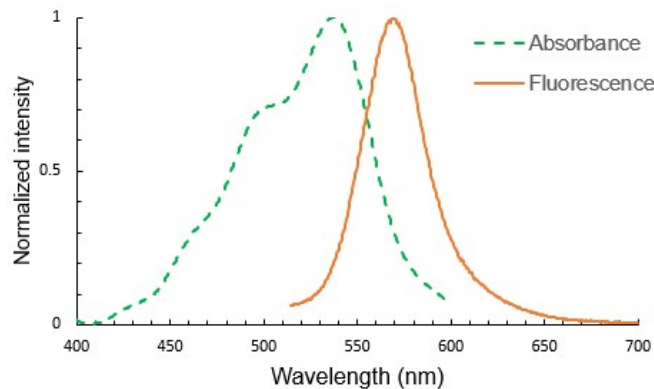


図 1. FeRhoNox™-1 の蛍光スペクトル。最大吸収波長は 537 nm, 最大蛍光波長は 569 nm。

■ 保存

色素は窒素封入、乾燥状態で冷蔵出荷しております。入荷後は遮光し -20°C 以下で冷凍保存してください。DMSO 溶解後は必ず使い切ってください。溶液で保存した試薬はバックグラウンド蛍光が高くなり、正確な結果が得られません。

2. プロトコル

■ ご用意いただくもの

- 高純度の dimethyl sulfoxide (DMSO) 未開封の高純度な試薬、または開封直後に小分けにして超低温フリーザーで保存しておいたものをご用意ください。和光純薬製の infinity pure グレード、またはその同等品を推奨します。品質が劣化した DMSO を用いると、FeRhoNox™-1 が分解され蛍光バックグラウンドが上昇することがあります。
- 適切な洗浄および観察用バッファー (例: PBS pH 7.4, HBSS など)

■ 試薬の調製および細胞の観察方法

1. 輸送中の振動で粉末がキャップに付着していることがありますので、キャップを開ける前にチューブをマイクロ遠心機等で遠心し、粉末をチューブの底に集めてください。
2. FeRhoNox™-1 50 µg (1 バイアル) を高純度の DMSO 109 µL に溶解させ 1 mM 溶液を作成します。
3. FeRhoNox™-1 の DMSO 溶液を HBSS で希釈し、終濃度 5 µM の溶液を作成します。希釈には必ず中性のバッファーをご使用ください。
4. ガラスボトムディッシュなどの細胞を培養している観察用容器から液体培地を除去し、HBSS で2回洗浄を行ったあと、前項で作成した 5 µM の FeRhoNox™-1 溶液を細胞に添加します。
5. 37°C、5% CO₂ 条件で 60 分間インキュベーションする。
6. HBSS で細胞を 3 回洗浄して顕微鏡などで観察します。

※ 必要に応じて、あらかじめ細胞に Fe²⁺ を投与しておくこと、細胞内の遊離 Fe²⁺ の増加が確認できます。使用直前に Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ (FAS) を 100 mM になるように純水で溶解し、細胞培養培地に終濃度 100 µM になるよう添加して 30 分間培養すると、細胞内の遊離鉄濃度が上昇します。この場合、細胞外の FAS をよく洗浄してから FeRhoNox™-1 を添加してください。

■ 蛍光観察

観察には一般的な蛍光顕微鏡用の G 励起フィルター (Cy3 用など) が使用できます。レーザー励起の場合は 532 nm または 543 nm レーザーが最適です。

表 2. 関連製品

型番	品名	主な用途
GC902	CopperGREEN™	遊離銅(I) イオンの検出に
SK2001-01	ZnAF-2	亜鉛イオン (Zn ²⁺) の検出に。
SK2002-01	ZnAF-2 DA	細胞内の亜鉛イオン (Zn ²⁺) の検出に。
SK3001-01	HPF	ヒドロキシラジカルやパーオキシナイトライトの検出に。
SK3002-01	APF	ヒドロキシラジカルやパーオキシナイトライト、次亜塩素酸の検出に。
SK3003-01	NiSPY-3	パーオキシナイトライト (ONOO ⁻) の検出に。
GC3004-01	OxiORANGE™	ヒドロキシラジカルや次亜塩素酸の検出に。オレンジ色の蛍光試薬。
GC3006-01	HySOx	次亜塩素酸を特異的に検出。
GC3007-01	HYDROP™	細胞内の過酸化水素を特異的に検出。
A101-01	MAR	細胞の低酸素応答の検出に。