



FerroOrange (Fe²⁺indicator) 亚铁离子荧光探针

产品简介

FerroOrange 是一种特异性检测不稳定的铁(II)离子 (Fe²⁺) 的荧光探针, 定位在内质网 (ER)。一旦与 Fe²⁺ 反应后, 不可逆的生成一种橙色荧光产物 (Absmax=542nm, FLmax=572nm, 图 1. FerroOrange 的光谱特征)。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. FerroOrange 的反应特异性)。FerroOrange 也不会与铁蛋白和其它物质中的螯合铁反应。FerroOrange 具强细胞膜渗透性和低细胞毒性 (见附图 3. FerroOrange 的细胞毒性测定), 非常适用于活细胞成像。

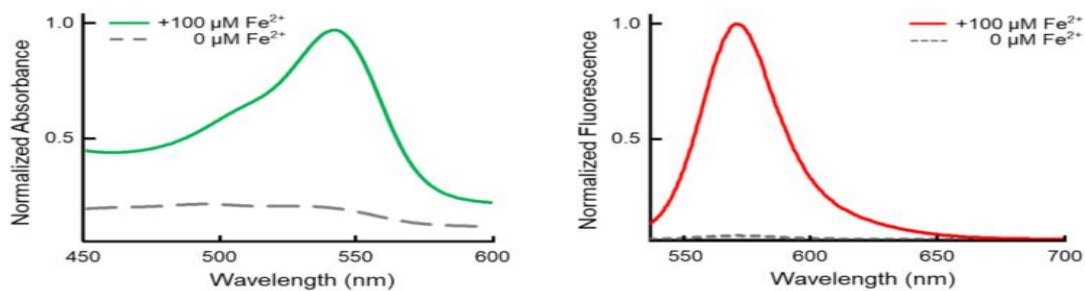


图 1. FerroOrange 的光谱特征。FerroOrange 在 0.05M HEPES buffer, pH 7.4 内的吸收光谱 (左) 和荧光光谱。最大吸收波长在 542nm, 最大荧光光谱在 572nm。一旦与 Fe²⁺ 反应, 荧光强度显著增加。

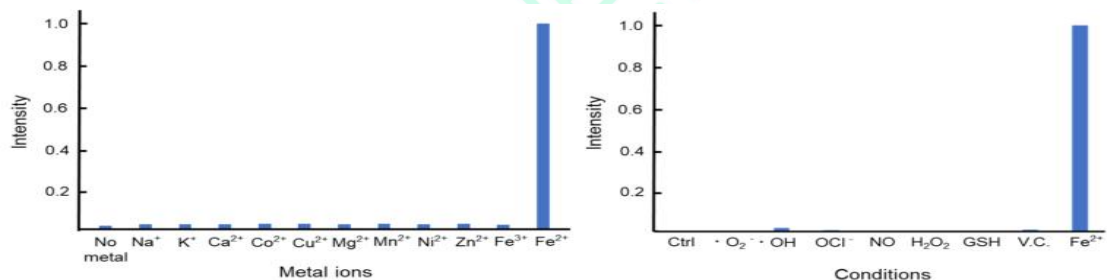


图 2. FerroOrange 的反应特异性。FerroOrange 与各种金属离子 (左), 活性氧或还原剂 (右) 的反应性。仅当与 Fe²⁺ 反应, FerroOrange 呈强荧光。

附录 FerroOrange 的细胞毒性

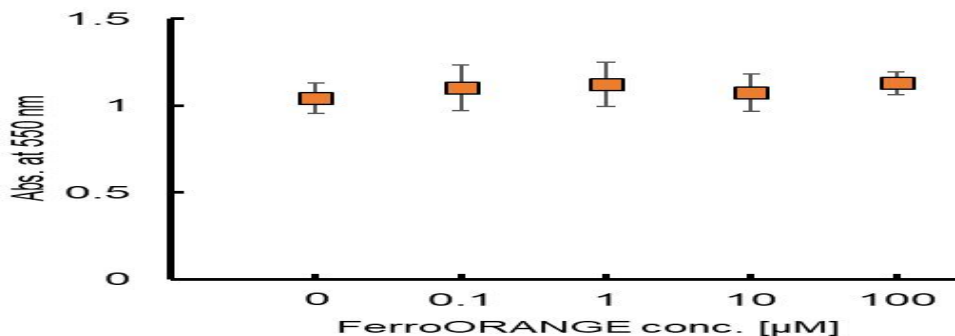


图 3. 各种浓度 FerroOrange 对 HepG2 细胞的代谢活性。不同浓度的 FerroOrange (以 1% DMSO 作为共溶剂) 加入细胞内, 培养 24h 后, 用 MTT 法测定代谢活性。(n=3)



附录 FerroOrange 的胞内定位

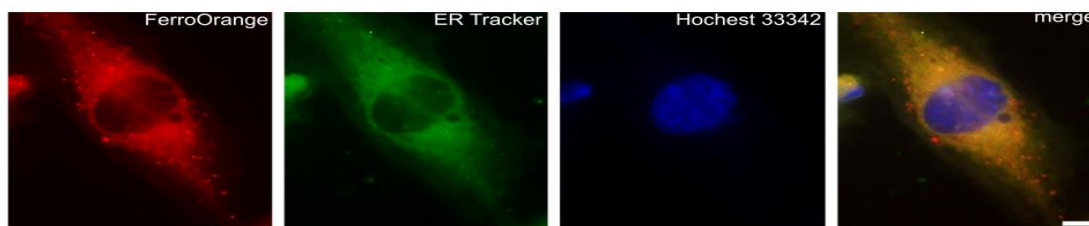


图 4. FerroOrange 的胞内定位。将 FerroOrange (红色), ER Tracker (绿色) 和 Hoechst 33342 (蓝色) 加载进入 HT-1080 细胞并成像观察。FerroOrange 主要定位在内质网。Bar: 10 μ m。

产品组成

名称	编号	FS1349	FS1349	Storage
FerroOrange (Fe ²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针		24ug	2×24ug	-20℃避光干燥保存
使用说明书		1 份		

保存及运输：-20℃避光干燥保存，至少 1 年有效。运输：冰袋运输。

操作步骤

1. 需要自行准备的材料

1.1 细胞培养级或超纯 DMSO (CAT: #FS0306) 【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℃，避免吸潮。降解的 DMSO 可能会增加 FerroOrange 的背景信号】

1.2 合适的清洗和观察缓冲液 (比如: PBS, pH 7.4; HBSS; 等)。【注意】不要含有酚红。

2. 探针准备

2.1 从冰箱取出 FerroOrange，置于室温至少 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 FerroOrange (24 μ g) 内加入 35 μ l 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 FerroOrange 储存液。若单次不能用完储存液，请根据单次用量分装，置于-20℃避光保存，一个月内使用。

2.3 于正式实验前，用中性缓冲液或细胞培养基来稀释 1mM FerroOrange 储存液到所需工作浓度 (比如: 1 μ M)，工作液需现配现用，尽快用完。

染色步骤

3.1 从玻璃底培养皿上培养的细胞中吸掉培养液。

3.2 吸掉上清液，用 HBSS 清洗细胞 2 次。

3.3 加入含 1 μ M FerroOrange 的染色工作液，于 37℃，5% CO₂ 培养箱中孵育 60min。

3.4 在荧光显微镜下观察细胞。

4. 荧光检测

对于荧光显微镜：通用的 G 激发滤片比如 Cy3 检测用的滤片。

对于激光显微镜和流式细胞仪：532nm，514nm 或 561nm 激光器用于激发。实在没有，亦可用 488nm 激光器。发射波长为 572nm。

注意事项

1) FerroOrange 主要定位在内质网 (见附图 4)，但也可能检测细胞质池内的 Fe²⁺，目前针对这一点未做



明确评估。

- 2) 酸性溶液会氧化 FerroOrange, 严重影响探针的效率。
- 3) 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。
- 4) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

货号	名称	规格
FS1360-50UG	C11 BODIPY 581/591 脂质过氧化荧光探针	1mg
FS1359-1MG	BODIPY 558/568 C12 脂质转运荧光探针	1mg
FS0306-100ML	二甲基亚砜 DMSO (细胞培养级)	100ml
FS1348-50UG	FeRhoNox-1 (Fe ²⁺ indicator) 亚铁离子荧光探针	50ug

