

Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7643-1mg	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)	1mg

【温馨提示】: 见我司整理的钙离子载体/探针 (Calcium ionophores/indicators) 产品专题。

产品简介:

Fura-2 是一种常用的紫外光激发和比率测定型 Ca^{2+} 荧光探针。一旦与 Ca^{2+} 结合后, Fura-2 的最大激发波长发生蓝色迁移, 由原来的 363nm (Ca^{2+} -free) 迁移到 335nm (Ca^{2+} -saturated), 而最大发射波长基本未变化, 保持在 510nm 左右。通常情况, 分别用最大激发波长 340nm 和 380nm 来激发 Fura-2, 且用 340/380nm 激发下的荧光比值来检测细胞内 Ca^{2+} 浓度。使用比值检测, 可消除不同细胞样品间荧光探针装载效率的差异, 探针的渗漏, 细胞厚度差异等因素导致的检测误差。Fura-2 自 1985 年合成以来, 广泛用于各种细胞系统和生化用途, 特别是数字显微成像。单波长检测, Fura-2 与 Ca^{2+} 结合后, 推荐用最大激发和发射波长分别为 340nm 和 510nm; 双波长检测, 则推荐用最大激发和发射波长分别为 340nm 和 380nm;

Fura-2, AM 是 Fura-2 的一种乙酰甲酯衍生物, 具有细胞膜渗透性, 只需简单培养, 即可轻易进入细胞。一旦进入细胞内, 即被其内酯酶剪切生成不具膜渗透性的 Fura-2, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。本品以冻干粉的形式提供, 使用时只需经无水 DMSO 充分溶解, 配置成 1~5mM 的储存液, 并稀释到合适的工作浓度即可。进行细胞内 Ca^{2+} 检测, Fura-2, AM 的常用浓度为 0.5~5 μM 。

产品特性:

- 1) CAS NO: 108964-32-5
- 2) 同义名: Fura-2, Acetoxymethyl Ester
- 3) 分子式: $\text{C}_{44}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{24}$
- 4) 分子量: 1001.86
- 5) 纯度: $\geq 95\%$ (HPLC)
- 6) 外观: 黄色粉末
- 7) 最大激发/发射波长: 363/512 nm (Ca^{2+} -free), 335/505 nm (Ca^{2+} -saturated)
- 8) 溶解性: 溶于 DMSO (1~5mM)

保存条件:

-20°C干燥避光保存, 有效期至少 1 年。

产品使用:

A, 试剂准备

- 1) 配制 Pluronic F-127 母液: 称取 100mg Pluronic F-127 粉末 (货号: NBS2009) 中加入 500 μ l DMSO, 配制成 20%(w/v) DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50°C加热 20-30min。溶液室温保存, 不用冷藏。如有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。
- 2) HHBS Buffer (1X Hank' s Balanced Salt Solution with 20mM HEPES buffer, pH 7.3) 或者其他生理缓冲液

B, 操作步骤

- 1) 用无水 DMSO 溶解 Fura-2, AM 配制成 1-5mM 的储存液, 或将已配好的 Fura-2, AM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 50 μ g Fura-2, AM 中加入 12.5 μ l 无水 DMSO)。准备 Fura-2, AM 工作液之前, 有时需要往 Fura-2, AM 储存液中加入适量的 20% Pluronic F-127 溶液, 以增强 AM 探针的水溶性。

【注①】: Fura-2, AM 染色工作液制备前, 添加等体积 20% Pluronic F-127 溶液到 Fura-2, AM+DMSO 储存液, 从而使 Pluronic F-127 的最终工作浓度约为 0.02%。

【注②】: Pluronic F-127 可以防止 AM 探针在溶液中聚合并促使探针更好进入细胞。但 Pluronic F-127 可降低 AM 探针的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议加入储存液长期保存。

- 2) 用 HHBS 或其他生理缓冲液将 Fura-2, AM+DMSO 储存液稀释到 0.1-5 μ M 的工作液。

【注①】: Fura-2, AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 4-5 μ M, 具体的使用浓度需根据实验要求进行优化。为了避免过度加载造成细胞毒性, 建议在取得有效结果的基础上尽量使用最低探针浓度。

【注②】: Fura-2, AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

- 3) **【可选】** 如果细胞内含有有机阴离子转运体, 丙磺舒 (Probenecid, 1-2.5mM) 或磺吡酮 (Sulfinpyrazone, 0.1-0.25mM) 可能需要加入细胞培养基内, 以降低去酯化探针的泄露水平。

【注①】: 丙磺舒或磺吡酮储存液相当偏碱, 因此加入培养基后需要重新调整 pH。

- 4) 将准备好的 Fura-2, AM 染色工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。37°C孵育 20-60min。

【注①】: 若使用含血清的培养基, 血清内酯酶会降解 AM, 从而降低 Fura-2, AM 加载效果。

而含酚红培养基会使本底值略偏高，建议加入染色工作液前，对细胞清洗 2~3 次。

【注②】：关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30min，看荧光效果；如果细胞死亡较多，适当缩短时间；如果荧光强度太弱，适当延长时间。

【注③】：降低探针加载温度可能会降低探针的区室化现象。

5) 吸掉染色工作液，并用 HHBS 或其他生理缓冲液（如有必要，使用含转运体抑制剂如 2.5mM 丙磺酸的缓冲液）清洗细胞 1~2 次，以去除残留探针。

6) 37°C再孵育 30min 以保证细胞内 AM 的完全去酯化。

7) 用荧光显微镜、荧光分光光度计或其他荧光检测设备，根据实验要求选择合适的波长进行检测。

注意事项：

1. 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。
2. 乙酰氧基甲基酯（AM）易吸潮，冰箱取出后请在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂微量，开封前请将其短暂离心，以保证粉末落入管底。
3. Fura-2, AM 在 4°C、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内，可在 20-25°C温育片刻至全部融解后使用。
4. Fura-2, AM 第一次使用，建议储存液现配现用，分装成单次用量，严格做到 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 密封干燥冻存，以防止受潮。为了保证良好的实验效果，尽量在短时间内使用。
5. Fura-2, AM 具有相对较强的抗光淬灭能力，细胞孵育后 1h 内观察，都不会因荧光泄露和光漂白作用导致测定结果发生明显变化。
6. Fura-2 不适合用激光共聚焦显微镜和流式细胞仪检测，因很难用它们完成激发光谱的快速转换。
7. 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它用途！

相关产品:

产品编号	产品名称	CAS NO.	包装规格
<u>NBS2009-1g</u>	<u>Pluronic®F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级</u>	9003-11-6	1g
<u>NBS2010-1ml</u>	<u>Pluronic® F-127 (20% Solution in DMSO), Cell Culture Tested</u>	9003-11-6	1ml
<u>NBS7636-50ug</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	121714-22-5	50ug
<u>NBS7637-1mg</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	121714-22-5	1mg
<u>NBS7638-50ug</u>	<u>Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	273221-67-3	50ug
<u>NBS7639-50ug</u>	<u>Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	N/A	50ug
<u>NBS7640-50ug</u>	<u>Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	129787-64-0	50ug
<u>NBS7641-50ug</u>	<u>Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	N/A	50ug
<u>NBS7642-50ug</u>	<u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	108964-32-5	50ug
<u>NBS7643-1mg</u>	<u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	108964-32-5	1mg
<u>NBS7644-50ug</u>	<u>Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	112926-02-0	50ug
<u>NBS7645-1mg</u>	<u>Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	112926-02-0	1mg