

Rhod-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7660-1mg	Rhod-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	1mg

【务必注意】：初次使用离子探针的用户，强烈建议配合：Pluronic F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级 (NBS2009-1g) 一起使用，以提高探针的水溶性和胞内加载性。

产品简介：

与其它基于 BAPTA 结构的指示剂相比，Rhod-5N 显示出更低的钙离子亲和力 ($K_d \sim 320 \mu\text{M}$)，适用于浓度在 $10 \mu\text{M} \sim 1 \text{mM}$ 的钙离子测定。与母本 Rhod-2 指示剂类似，Rhod-5N 在不含二价阳离子的情况下基本无荧光，一旦与钙离子结合后，呈现出显著的荧光增加，光谱基本无迁移。低亲和钙离子指示剂特别适合于具高浓度钙离子的细胞区室研究，比如：内质网，在这种区室内高亲和探针对腔室钙水平变化不敏感。

Rhod-5N AM 是 Rhod-5N 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 Rhod-5N，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 $2 \sim 5 \text{mM}$ 的储存液，并依据具体实验和相关文献资料调整到需要的工作浓度即可。

产品特性

- 1) 化学名：N-(9-(4-(bis(2-(acetoxymethoxy)-2-oxoethyl)amino)-3-(2-(2-(bis(2-(acetoxymethoxy)-2-oxoethyl) amino)-5-nitrophenoxy)ethoxy)phenyl)-6-(dimethylamino)-3H-xanthen-3-ylidene)-N-methylmethanaminium bromide
- 2) 同义名：Rhod-5N, Acetoxymethyl Ester
- 3) 分子式： $\text{C}_{51}\text{H}_{56}\text{N}_{5}\text{O}_{11}\text{Br}$
- 4) 分子量：1154.92
- 5) Ex/Em (Ca^{2+} 结合)：551/576 nm
- 6) K_d (Ca^{2+} 结合，不含镁离子的缓冲液)： $\sim 320 \mu\text{M}$
- 7) 溶解性：溶于 DMSO ($2 \sim 5 \text{mM}$)

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: NBS2009-1g) 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 7.2) 或者其他生理缓冲液

B, 操作步骤

- 1) 用无水 DMSO 溶解 Rhod-5NAM 配制成 2-5mM 的储存液, 或将已配好的 Rhod-5NAM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 1mgRhod-5NAM 中加入 216.4 μ l 无水 DMSO)。准备 Rhod-5NAM 工作液之前, 有时需要往 Rhod-5NAM 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】: Rhod-5NAM 染色工作液制备前, 添加适量体积 20% Pluronic F-127 溶液到 Rhod-5NAM + 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 Rhod-5NAM +DMSO 储存液稀释到 1-10 μ M 的工作液。

【注①】: Rhod-5NAM 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】: Rhod-5NAM 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 Rhod-5NAM 工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。37°C 孵育 20min-2h。
- 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 1 mM 丙磺舒的缓冲液) 清洗细胞 1~2 次, 以去除残留探针。

- 6) 室温再孵育 30min 以保证细胞内 AM 的完全去酯化。
- 7) 用适当的仪器如激光共聚焦、流式细胞仪、荧光酶标仪, 以及波长 Ex/Em=551/576 nm 来进行检测。

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. Rhod-5N, 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. Rhod-5N, 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. 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	包装规格
<u>NBS7636-50ug</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	50ug
<u>NBS7637-1mg</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	1mg
<u>NBS7638-50ug</u>	<u>Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	50ug
<u>NBS7639-50ug</u>	<u>Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	50ug
<u>NBS7640-50ug</u>	<u>Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	50ug
<u>NBS7642-50ug</u>	<u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	50ug
<u>NBS7652-1mg</u>	<u>Fluo-3 Pentapotassium Salt Fluo-3 五钾盐</u>	1mg
<u>NBS7653-1mg</u>	<u>Fluo-3 Pentasodium Salt Fluo-3 五钠盐</u>	1mg
<u>NBS7654-500ug</u>	<u>Fluo-4 Pentapotassium Salt Fluo-4 五钾盐</u>	10x50ug
<u>NBS7657-500ug</u>	<u>Fluo-5N Pentapotassium Salt, Cell Impermeant 钙离子荧光探针</u>	500ug
<u>NBS7658-100ug</u>	<u>Fluo-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	2x50ug
<u>NBS7660-1mg</u>	<u>Rhod-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	1mg
<u>NBS7661-100ug</u>	<u>Fura Red, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	2x50ug
<u>NBS7662-500ug</u>	<u>Fura-FF AM , Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	10x50ug