

Fura-FF AM , Cell Permeant 钙离子荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7662-500ug	Fura-FF AM , Cell Permeant 钙离子荧光探针	10x50ug

【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：

Fura-FF 是钙离子指示剂 Fura-2 (货号：NBS7642, 货号：NBS7663) 的二氟化衍生物。与 Fura-2 不同，Fura-FF 对镁离子 (Mg^{2+}) 基本不敏感，减少了该离子带来的测定干扰。Fura-FF 比 Fura-2，呈现出更高的钙离子解离常数 ($K_d=6\mu M$ versus $0.14\mu M$)。然而，两者的光谱特征类似，体系不含钙离子时激发和发射波长是 365/514nm，当体系含高浓度钙离子时激发和发射波长迁移到 339/507nm。低亲和钙离子染料，包括：Fura-FF，更倾向于研究含高浓度钙离子的细胞器 (比如：线粒体)，或具相对较低钙离子缓冲能力的细胞系统，比如：神经元树突和神经树突棘。

Fura-FF AM 是 Fura-FF 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-FF，从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。

产品特性：

- 1) CAS NO: 348079-12-9
- 2) 化学名: 2-[6-[bis[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl]amino]-5-[2-[6-[bis[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl] amino]-2,3-difluorophenoxy]ethoxy]-2-benzofuranyl]-5-oxazolecarboxylic acid(acetyloxy)methyl ester
- 3) 同义名: Fura-2FF, AM; Fura-FF, Acetoxymethyl Ester;
- 4) 分子式: $C_{43}H_{43}F_2N_3O_{24}$
- 6) 最大激发/发射波长: 365/514 nm (Ca^{2+} -free), 339/507 nm (high Ca^{2+} -bound)
- 7) 溶解性: 溶于 DMSO (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: NBS2009-1g) 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 7.2-7.4) 或者其他生理缓冲液

1) 用无水 DMSO 溶解 Fura-FF AM 配制成 2-5mM 的储存液, 或将已配好的 Fura-FF 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-FF AM 中加入 12.2 μ l 无水 DMSO)。准备 Fura-FF AM 工作液之前, 有时需要往 Fura-FF AM 储存液中加入适量的 10% Pluronic F-127 溶液, 以增强 AM 探针的水溶性。

【注①】: Fura-FF AM 染色工作液制备前, 添加一定体积的 10% Pluronic F-127 溶液到 Fura-FF 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-FF AM+DMSO 储存液稀释到 1-20 μ M 的工作液。

【注①】: Fura-FF AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 2-5 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-FF AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

3) **【可选】**如果细胞内 (比如 CHO 细胞) 含有机阴离子转运体, 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。

4) 将准备好的 Fura-FF AM 染色工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。室温或 37°C孵育 20-120min。

【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-FF 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 1mM 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) 用合适的激发/发射波长来检测荧光。

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. 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