

Mag-Fura-2 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5952-50ug	Mag-Fura-2 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针	50ug
NBS5952-100ug	Mag-Fura-2 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针	2x50ug
NBS5952-500ug	Mag-Fura-2 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针	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（货号：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：

Mag-Fura-2 AM 是一种胞内镁离子指示剂，属于紫外激发的比率型探针，与镁离子结合的 Kd 值为 1.9mM。与 Fura-2 类似，Mag-Fura-2 的激发波长历经蓝色迁移从 369nm 到 330nm。Mag-Fura-2 AM 具细胞膜渗透性，只需简单孵育，即可加载进入细胞。

产品特性：

- 1) CAS NO.: 130100-20-8
- 2) 化学名: 5-Oxazolecarboxylic acid, 2-[5-[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethoxy]-6-[bis[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl]amino]-2-benzofuranyl]-(acetyloxy)methyl ester
- 3) 同义名: Furaptra, AM ester
- 4) 分子式: C₃₀H₃₀N₂O₁₉
- 5) 分子量: 722.56g/mol
- 6) 外观: 黄色固体
- 7) 纯度: ≥90%
- 8) Ex/Em: 336/503 nm
- 9) 溶解性: 溶于 DMSO

保存条件:

-20°C 干燥避光保存，至少一年有效。

产品使用：

1. 储存液制备

取一管低温保存的 Mag-Fura-2 AM, 置于室温回温至少 20min。之后加入高质量无水 DMSO 配制成 1~5mM 储存液, 比如 50 μ g Mag-Fura-2 AM (MW: 722.56 g/mol) 溶于 13.8 μ l DMSO, 充分溶解后, 即得到 5mM 储存液。【注意】未使用的储存液分装储存在 -20 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融, 且要避光保存。尽快使用完。

2. 操作步骤

【注意】以下使用方法仅作参考, 需根据具体的细胞类型和实验要求做出调整。加载温度范围是 RT~37 $^{\circ}$ C, 更高温度会提高加载速度, 但更低温度能最小化染料的内在化现象。表面活性剂 Pluronic®F-127 有时加入能促进 AM 探针在水溶性缓冲液内的均匀分散。

2.1 在所需温度 (25 $^{\circ}$ C~37 $^{\circ}$ C) 预孵育细胞 10min, 使其离子梯度达到稳定和平衡。

2.2 取 4 μ l Mag-Fura-2 AM 储存液和 5 μ l 20% Pluronic®F-127, 加入 1ml 细胞培养液, 剧烈漩涡混匀得到均匀的探针分散液。

2.3 取 250 μ l 上述制备的探针分散液加入 750 μ l 含细胞的培养基内, 混匀, 此时得到终浓度为 1~5 μ M 的工作液, 根据起始母液浓度来确定。

2.4 根据需求探针孵育 15~60min。

2.5 细胞清洗 3 次, 之后继续孵育 30min 以保证细胞内的探针完全去酯化。之后选择合适的仪器, 进行荧光测定。

3. 响应校正

镁离子指示剂的校正方法基本与钙离子指示剂类似。需注意校正是在所有指示剂都已去酯化且都与离子结合的假设上进行。校正包括完全不含离子和离子完全饱和相对于外部控制镁离子浓度的荧光测定。胞内校正可能以两种方式进行, 要么通过去污剂裂解细胞 (通常使用地高辛) 将胞内指示剂释放进入周围溶液, 要么通过一种离子载体来控制胞内镁离子, 不用释放指示剂到周围溶液。比率型指示剂比如 Mag-Fura-2 也可能在无细胞溶液内进行校正, 虽然偏好选择原位校正, 由于指示剂对镁离子的亲和性依赖于胞浆环境。相对于离子霉素 (货号: NBS7634-1mg), 镁离子校正时倾向选择离子载体 A-23187 (货号: NBS7632-1mg) 和 4-bromo-A23187 (货号: NBS7633-1mg), 由于前者能更有效的转运镁离子。用来校正镁离子指示剂的溶液最初需不含重金属离子比如镁, 否则会跟镁离子指示剂结合。可通过二价阳离子螯合剂 TPEN (货号: NBS5877-25mg) 处理溶液。

3.1 对于具离子依赖性的光谱迁移的指示剂, 比如 Mag-Fura-2, Kd 值 (或 Mg²⁺ 浓度, 当 Kd 值已知) 能通过以下公式进行换算:

$$[Mg^{2+}] = K_d Q \frac{(R - R_{\min})}{(R_{\max} - R)}$$

R: 代表荧光比值 ($F_{\lambda 1}/F_{\lambda 2}$), $\lambda 1$ 是离子复合物的检测波长, $\lambda 2$ 是游离指示剂的检测波长。Min 和 Max 表示最小和最大离子浓度。Q: $\lambda 2$ 波长检测下的 $F_{\min}/F_{\max}$ 的比值。Kd 是离子-指示剂复合物的解离常数。

3.2 对于单波长指示剂比如 Mag-Fluo-4, 通过以下公式来确定 Kd 值, F 指的是在单波长下测定的荧光强度。

$$[Mg^{2+}] = K_d \frac{(F - F_{\min})}{(F_{\max} - F)}$$

在上述公式中, 需注意 F 值依赖于指示剂浓度, 但 R 值不依赖于指示剂浓度。

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. 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他用途!

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS2009-1g</u>	<u>Pluronic®F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级</u>	1g
<u>NBS5951-1mg</u>	<u>Mag-Fura-2 Tetrapotassium Salt, Cell Impermeant</u>	1mg
<u>NBS5952-50ug</u>	<u>Mag-Fura-2 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针</u>	50ug
<u>NBS5953-500ug</u>	<u>Mag-Fluo-4 Tetrapotassium Salt, Cell Impermeant</u>	10x50ug
<u>NBS5954-100ug</u>	<u>Mag-Fluo-4 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针</u>	2x50ug
<u>NBS5955-100ug</u>	<u>Mag-520 AM, Cell Permeant 镁离子荧光探针</u>	2x50ug
<u>NBS5956-500ug</u>	<u>Mag-520 Potassium Salt 镁离子荧光探针</u>	10x50ug