

Fura-2, AM, Cell Permeant 细胞膜可渗透钙离子荧光探针

产品信息

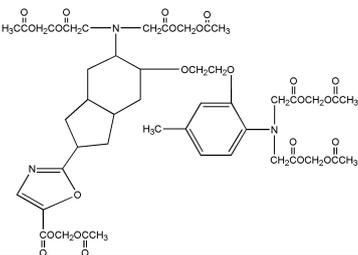
产品名称	产品编号	规格
	40702ES50	50 μ g
Fura-2, AM, Cell Permeant 细胞膜可渗透钙离子荧光探针	40702ES72	5 \times 50 μ g
	40702ES80	1 mg

产品描述

Fura-2, 细胞生物学常用的一种钙荧光探针, 能特异性地结合 Ca^{2+} (结合比例为 1:1), 同时可发出荧光, 结合 Ca^{2+} 后的最大激发波长从结合前的 380 nm 向 340 nm (Ca^{2+} 饱和时) 偏移, 其发射荧光强度与结合 Ca^{2+} 的浓度存在定量关系。一般用 340 nm 和 380 nm 波长激发 Fura-2, 通过使用与两种激发对应的荧光强度比率来计算细胞内的钙离子浓度, 这种比率测量方法可以消除不同细胞样品间荧光探针装载效率的差异, 荧光探针的渗漏, 细胞厚度差异等一些误差因素。Fura-2 与 Indo-1 已成为目前使用最广泛的比率测量的钙荧光指示剂。目前适用于 Fura 2 实验的设备有很多, 但 Fura-2 特别适合于数字成像显微镜, 使用该设备可更方便的调整激发波长, 使探针结合钙离子后在 300-400 nm 的激发波长范围内扫描 Fura-2 的吸收偏移, 在 510 nm 处检测发射波长。

由于 Fura-2 是极性大的酸性化合物, 无法进入细胞内, 为此在其负性基团上结合乙酰氧甲酯, 使其成为 Fura-2/AM, 该变化既增加了酯溶性又消除了负电荷, 极大的提高了细胞渗透性。在细胞内, Fura-2/AM 被酯酶水解成 Fura-2 后可与胞浆游离 Ca^{2+} 可逆性结合。

产品性质

CAS 号 (CAS NO.)	108964-32-5
分子式 (Formula)	$\text{C}_{44}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{24}$
分子量 (Molecular Weight)	1001.86
Ex/Em	Ex=340 nm/380 nm Em=510 nm
溶解性 (Solubility)	溶于 DMSO.
外观 (Appearance)	黄色或橙黄色粉末
结构式 (Structure)	

运输和保存方法

室温运输。-20 $^{\circ}$ C 避光干燥保存, 可保存 1 年。

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 (Acetoxymethyl ester, AM) 容易吸潮, 从冰箱取出后, 请确认在干燥的环境放置至室温后再开封。由于试剂极其微量, 开封前请将其短暂离心, 以保证粉末落入管底。
- 3) 第一次使用时, 建议母液现配现用。且溶解后的试剂尽可能在短时间内使用, 以保证实验效果。
- 4) 母液遇水极易分解, 若单次不能用完, 建议分装保存, 例如 5 μ L/管, 用封口膜封口, 并严格做到 \leq -20 $^{\circ}$ C 密封干燥保存。

- 5) 建议您在正式实验前先摸索一下细胞量、钙离子荧光探针的终浓度、培养时间等，找到最佳实验条件。
- 6) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 7) 本产品仅作科研用途！

使用方法

1) Fura-2/AM 储存液的配制

利用高质量无水 DMSO 溶解 Fura-2/AM 配制 1-5 mM 的储存液，该储存液可分装于 -20℃ 避光干燥密封保存，最长可保存 6 个月，但是避免反复冻融，建议分装保存。每次使用前需回温至室温。

- 【注】：**① 因为 Fura-2/AM 在水中的溶解性和稳定性较差，不可用水溶性缓冲液配制 Fura-2/AM 储存液。
② 溶解用的 DMSO 需要保证新鲜无水，否则将会导致 AM 体水解，使荧光染料无法进入细胞，影响实验效果。

2) Fura-2/AM 工作液的配制

利用合适缓冲液将 Fura-2/AM 稀释成 1-5 μM 的工作液，具体稀释方法如 1 mM 母液配制 1 mL 浓度为 4 μM 工作液，用 1 mL 缓冲液稀释 4 μL 1mM 母液即可，混匀。

- 【注】：**① 典型工作液浓度为 0.1-5 μM，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。
② Fura-2/AM 工作液需现配现用，避免反复冻存。

3) (可选) 如果 Fura-2/AM 进入细胞的效果不好，可向 Fura-2/AM/DMSO 储存液中加入适量 20% Pluronic F127 溶液，最终稀释至其终浓度为 0.02-0.05%，Pluronic F127 可以防止 Fura-2/AM 在缓冲液中聚合并能帮助其进入细胞。

- 【注】：**Pluronic F127 可降低 Fura-2/AM 的稳定性，因此只建议在配制工作液时加入，不建议将其加入储存液长期保存。

4) 取出预培养的细胞，除去培养基，使用缓冲液洗涤细胞 3 次。

【注】：如果使用含血清的培养基，血清中的酯酶会分解 AM 体，从而降低 Fura-2/AM 进入细胞的效果。另外含有酚红的培养基会使本底值略微偏高，所以加工作液之前需尽量去除培养基残留。

5) 将 Fura-2/AM 工作液加入细胞，加入量以覆盖细胞为准。在 37℃ 培养 15-60 min，然后除去 Fura-2/AM 工作液。

- 【注】：**① 关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30 min，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。
② 降低加载温度可能会减少探针 AM 酯运载技术造成的探针区室化。

6) 用缓冲液洗涤细胞 3 次，以充分去除残留的 Fura-2/AM 工作液。然后加入缓冲液覆盖细胞。

7) 37℃ 培养箱孵育约 20-30 min，以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。

- 【注】：**(可选) 对于含有阴离子通道蛋白的细胞，5-7 步骤中可加入有机阴离子转运抑制剂 probenecid (1-2.5 mM) 或 sulfipyrazone(0.1-0.25 mM)到细胞外液以减少指示剂去酯后的渗漏。

8) 数字成像显微镜检测细胞。

- 【注】：**某些细胞具有自体荧光会影响结果分析，需使用未加载探针细胞做对照，在结果分析时在同一波长下扣除自荧光。