

钙离子探针 Fura-2 AM 说明书

货号: IF1510

保存: Powder:-20℃,2 years;Insolvent(母液):-20℃,6 months;-80℃,1 year (protect from light)

产品简介

钙离子探针 Fura-2 AM 是一种可渗透细胞的高亲和力钙离子荧光探针。Fura-2 AM 是 Fura-2 的酯形式, Fura-2 是极性大的酸性化合物, 无法进入活细胞内, 在其负性基团上加上乙酰氧甲酯 (AM) 后, 显著增加了细胞渗透性。

Fura-2 AM 穿透细胞膜进入活细胞后, 被细胞内的酯酶去酯化变成 Fura-2 游离酸, 后者可与胞浆内的游离 Ca^{2+} 特异性地结合 (结合比例为 1:1)。当 Fura-2 结合胞质内的游离 Ca^{2+} 后, 表现出吸收位移, 激发波长峰值从 380 nm 变为 340 nm, 而 510 nm 附近的发射峰值保持不变。荧光强度与结合 Ca^{2+} 的浓度存在定量关系。一般用 340 nm (钙离子-Fura-2) 和 380nm (Fura-2) 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。比率测量可最大程度地减少混合物中的光漂白, 荧光探针的泄漏, 探针的不均匀装载和细胞厚度差异的影响, 从而提供更可靠和可再现的结果。

产品参数

CAS : 108964-32-5

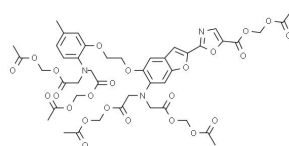
分子式: $\text{C}_{44}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{24}$

分子量: 1001.85

纯度: $\geq 95\%$

外观: Solid

溶解性: Soluble in DMSO



使用说明 (仅供参考)

制备储存液

用 DMSO 配制 1 mM 的储备液。如: 50 μg 的 Fura 2-AM 粉末溶于 49.9 μL DMSO 中。

注: a.未使用的储存液建议分装储存在-20℃, 避免反复冻融。

b.吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响, 请使用新开封的 DMSO。

工作液的配制

用合适的缓冲液 (如: HBSS 等) 稀释储液, 配制成 1-10 μM 的 Fura-2 AM 工作液。

注: a. 工作液最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系来优化。

b. 发现较难溶解时可以适当超声处理以促进溶解。

c. 请根据实际情况调整工作液浓度, 且现用现配。

装载探针

1. 取出预培养的细胞, 除去培养基, 使用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次。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。

2. 加入 Fura 2-AM 工作液，溶液量以覆盖细胞为准。
3. 37℃细胞培养箱孵育 10-60 分钟，除去 Fura 2-AM 工作液。关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30 分钟，看荧光效果：如果细胞死亡较多，缩短时间；荧光强度太弱，延长时间。
4. 用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次，以充分去除残留的 Fura 2-AM 工作液。然后加入 HBSS 溶液覆盖细胞
5. 37℃培养箱孵育约 20-30 分钟，以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。如果细胞内酯酶活性较低，建议严格按照此操作进行；酯酶活性高的细胞实验，可以忽略此步。
6. 用流式细胞仪或其它设备检测细胞，激发波长 380 nm (Fura 2) 和 340 nm (钙离子-Fura 2)，发射波长 510 nm。

计算公式

胞内游离 Ca^{2+} 浓度 = $K_d \cdot (F_0/F_s) \cdot (R - R_{\min}) / (R_{\max} - R)$

*式中 K_d 值为 224 nmol/l, F_0 和 F_s 分别代表 Ca^{2+} 为零及饱和状态下测得的荧光强度, R 为实验观察到的荧光比值, $R_{\max}$ 和 $R_{\min}$ 分别为最大和最小的荧光比值。

*标记的条件因细胞种类而异，在每次实验前，请先确定最佳条件。以上方法仅供参考。

注意事项

1. 如果 Fura-2 AM 进入细胞的效果不好，可使用 Pluronic F-127，后者可以防止 Fura 2-AM 在缓冲液里聚合并能促进其进入细胞。Pluronic F-127 先用 DMSO 溶解至浓度为 20% (W/V)，然后根据实验需要直接加入 Fura-2 AM 工作液中至终浓度为 0.04-0.05%（此浓度仅供参考，请根据具体实验要求自行调整）。
2. Fura-2 AM 干粉容易吸潮，从冰箱取出后，请确认在干燥的环境放至室温后再开封。由于本产品极其微量，开封前，请轻弹管壁数次或瞬时离心，以保证粉末落入管底。
3. 建议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。
4. 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。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

相关产品

P6791	Pluronic F-127 (20% in DMSO)
IF0150	钙离子探针 Fluo-3AM
IF1500	钙离子探针 Fluo-4AM
IKA1012-1	钙离子浓度检测 Kit (即用型, Rhod-2 AM)