

## Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

### 产品信息:

**产品名称:** Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

### 产品规格:

目录号	产品名称	规格
X12114	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 $\mu$ g
X13097	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	5x50 $\mu$ g
X13098	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	10x50 $\mu$ g

### 产品说明:

CAS 号	108964-32-5
分子式	C <sub>44</sub> H <sub>47</sub> N <sub>3</sub> O <sub>24</sub>
分子量	1001.86 g/mol
最大激发/发射波长	363 nm/512 nm
溶解性	溶于 DMSO
保存	-20°C避光干燥保存
运输	冰袋运输

### 使用说明:

#### 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<sup>2+</sup> (结合比例为 1:1), 同时可发出荧光, 结合 Ca<sup>2+</sup>后的最大激发波长从结合前的 380 nm 向 340 nm (Ca<sup>2+</sup>饱和时) 偏移, 其发射荧光强度与结合 Ca<sup>2+</sup>的浓度存在定量关系。一般用 340nm 和 380nm 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<sup>2+</sup>可逆性结合。

#### 操作说明:

##### 一、需要试剂准备

1) (可选) 配制 Pluronic F-127 母液: 100mg Pluronic F-127 粉末 (Cat No. 60318ES60) 中加入 0.5 mL DMSO, 配制成 20%(w/v)的 DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50°C加热 20-30 min。溶液室温保存, 不要冷藏。如果有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。

## 2) Hanks•balanced salt solution

**二. 使用步骤****1) Fura-2/AM 储存液的配制**

利用高质量无水 DMSO 溶解 Fura-2/AM 配制成 1-5 mM 的储存液, 该储存液可分装于-20°C避光干燥密封保存。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  $\mu\text{M}$  的工作液, 具体稀释方法如 1 mM 母液配制 1 mL 浓度为 4  $\mu\text{M}$  工作液, 用 1 mL 缓冲液稀释 4  $\mu\text{L}$  1 mM 母液即可, 混匀。

【注】: ① 典型工作液浓度为 0.1-5  $\mu\text{M}$ , 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。

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 溶液中加入适量 20% Pluronic F127 溶液, 最终稀释至其终浓度为 0.04-0.05%, 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°C 培养 15-60 min, 然后除去 Fura-2/AM 工作液。

【注】: 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。

**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°C 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。

**8)** 数字成像显微镜检测细胞。

【注】: ① 某些细胞会将荧光探针被动运输或分泌到胞外, 在一些通过阴离子泵泄漏探针的细胞内该现象尤其严重, 此时需加入一些抑制剂防止该情况的发生, 如加入适量的丙磺舒或磺吡酮。但需注意, 抑制剂的加入量必须经过优化, 过量的抑制剂也会对细胞造成不利影响。

② 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。

**注意事项:**

为了您的安全和健康, 请穿实验服并带一次性手套操作。

**本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。**