

PBFI AM (K⁺ Indicator) 钾离子指示探针

产品信息:

产品名称: PBFI AM (K⁺ Indicator) 钾离子指示探针

规格:

目录号	产品名称	规格
X12123-100ug	PBFI AM (K ⁺ Indicator) 钾离子指示探针	2×50μg
X12123-500ug	PBFI AM (K ⁺ Indicator) 钾离子指示探针	10×50μg
X12123-1000ug	PBFI AM (K ⁺ Indicator) 钾离子指示探针	20×50μg
X12123-1mg	PBFI AM (K ⁺ Indicator) 钾离子指示探针	1mg

产品说明:

CAS 号	124549-23-1
分子式	C ₅₈ H ₆₂ N ₂ O ₂₄
分子量	1171.1g/mol
纯度	≥95%
外观	黄色至橙色粉末
溶解性	溶于 DMSO (10mM) 和甲醇
运输	冰袋运输
保存	也可-20℃干燥保存, 2 年有效

产品描述:

PBFI, 英文全名 Potassium-binding Benzofuran Isophthalate, 一种 K⁺敏感的荧光探针, 用来测定细胞和细胞内区隔(Intraellular compartments)的 K⁺水平变化。虽然 PBFI 对 K⁺的选择能力弱于 Ca²⁺指示剂比如 Fura-2,但在其他一价阳离子存在体系中, PBFI 足以检测 K⁺ 的生理浓度。结合离子后的 PBFI 光谱变化可通过激发光比率测定来分析, 其能与使用相同光滤片和仪器检测的探针 Fura-2 共同使用。

PBFI 对 K⁺的解离常数(Kd) 非常依赖于 Na⁺的存在与否。在不含 Na⁺的体系, PBFI 对 K⁺ 的 Kd 值为 5.1mM;而在含 135mM K⁺/ Na⁺总浓度(约为生理离子强度)的溶液体系, PBFI 对 K⁺ 的 Kd 值为 44mM;若缓冲液中的 Na⁺用四甲基氯化铵所替代, PBFI 对 K⁺ 的 Kd 值变为 11mM。氯化胆碱和 N-甲基葡萄糖胺是培养基中另两种可能替代 Na⁺的化合物。虽然 PBFI 对 K⁺的选择性比 Na⁺仅强 1.5 倍, 这一选择能力已足以满足检测需求, 因为正常情况细胞内 K⁺浓度比 Na⁺高 10 倍左右。

本品为乙酰氧基甲基酯(Acetoxymethyl ester, AM ester) 形式的 PBFI, CAS NO: 124549-23-1. 具有细胞膜渗透性, 只需简单孵育即可进入细胞, 常用加载浓度范围 5-10μM,加载时间 40min-4h,根据具体的实验要求和细胞类型来调整。

PBFL AM 操作方法和注意事项

以下步骤仪做参考，具体请根据招实际情况成参考文献资料来调整。

- 1.配置 1-10mMPF AM 储存液:比如,实验前取一管 50ug PBFP AM 双于室温回温至少 20mi 低速离心后,往管内加入 8 .5 ul 无水 DMSO 使其充分溶解后, 制备成 5mM 储存液, 用不完, 需分装冻存。
- 2.准备 25% (w/v) Pluronic F-127: 100mg Pluronic F-127 粉末中加入 400ul DMSO, 配制成 25%(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。[也可配置成其他浓度 Pluronic F-127,只需保证最终工作体系内 Pluronic F-127 < 0.1% (w/v)].
- 3.于正式实验前, 将 PBFI AM 储存液于等体积 25% (w/v) PluronicF-127 混匀。[注意: PBFI AM 水溶性差, 必须借助 Pluronic F-127 来促进其分散进入水溶性加载缓冲液。两者只能在实验前混匀, 不能保存待用].
- 4.将上述混合液加入适量细胞加载缓冲液(如生理缓冲液 PBS,无血清细胞培养基等)达到所需的工作浓度, 加入细胞内进行探针标记。孵育温度可以是室温或 37°C, 孵育浓度通常为 5-10uM, 时间 40min-4h,具体的孵育浓度和时间请参考相关的文献资料。
- 5.孵育结束, 再加入不含探针的细胞加载缓冲液额外孵育 20-60min.以保证细胞将 PBFI AM 完全酯酶化。
- 6.最后用生理缓冲液或无血清培养基清洗细胞至少一次, 以降低胞外背景荧光。
- 7.用合适的仪器检测荧光信号, 分别收集激发波长 340nm, 380nm, 发射波长 500nm (发射波长范围 450-550nm, 根据你的实际荧光信号看看最大波长吸收峰大概在哪个位置) 根据双激发波长收集荧光信号的比值来确定离子浓度。

[注意事项] :

- 1.如果细胞加载缓冲液是以碳酸氢钠为缓冲体系, 那么加载需要含 5% CO₂ 的环境内进行, 以防止因 CO₂ 损失引起的缓冲液碱化。
- 2.如果细胞加载缓冲液含血清, 那需适当提高 AM 探针工作浓度, 以补偿因 AM 探针与血清蛋白结合引起的损失。
- 3.某些情况下, 对分子量接近或超过 1000 的 AM 探针, 需用不含 AM 探针的细胞加载缓冲液进一步孵育 20-60min,以保证细胞内酯酶能充分降解 AM 基团。
- 4.探针的加载时间和浓度因具体的细胞类型而有差异, 请使用前参考相应的文献资料来设计和投票最佳条件。
- 5.探针的细胞 K_d 值与溶液 K_d 值有差异, PBFL 的胞内 K_d 值可用 K⁺载体如缬氨霉素(valinomycin)来校正(alibration)

注意事项:

- 1) PBF1 AM 易受潮, 粉末需干燥保存, 粉末需用无水 DMSO 溶解, 配制储存液(如 10mM), 置于-20°C 干燥避光保存, 小量分装避免反复冻融, 至少 3 个月稳定。
- 2) PBF1 AM 由于水溶性较差, 建议使用 Pluronic F-127 以优化探针的细胞加载效率。通常情况, 将 PBF1 AM 的 DMSO 储存液与等体积 Pluronic F-127 (25% w/v)混合均匀, 之后即刻加入适量的细胞加载缓冲液(cell loading buffer) 中达到所需浓度。
- 3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。