

DAF-FM Diacetate

Cat# CF0821

产品概述

DAF-FM 是一种用于定量检测和生物成像一氧化氮 (NO) 的重要荧光试剂。DAF-FM Diacetate 是 DAF-FM 的二乙酸酯形式，其细胞渗透性更强。进入细胞后，DAF-FM Diacetate 被细胞酯酶水解为细胞渗透性较低的 DAF-FM，从而防止 DAF-FM Diacetate 从细胞中泄漏而导致的信号丢失。在氧气存在下，DAF-FM 与 NO 反应生成高荧光的苯并三氮唑，荧光量子产率增加约 160 倍。DAF-FM Diacetate 的 Ex/Em=495/515nm，可通过任何能够检测荧光的仪器进行检测，包括流式细胞仪、显微镜、荧光微孔板阅读器和荧光仪。

相比 DAF-2，DAF-FM Diacetate 也具有一定优势。当 pH > 5.5，DAF-FM 与 NO 加合产物的光谱与 pH 无关。此外，DAF-FM 的 NO 加合产物比 DAF-2 具有更强的光稳定性，不易淬灭，检测将更加方便。最后，DAF-FM 对 NO 的灵敏度更高，DAF-FM 的 NO 检测限为~ 3 nM，而 DAF-2 的检测限为~ 5 nM。

表 1 DAF-FM Diacetate 的光谱特性

产品编号	产品名称	分子量 (MW)	Ex (nm)	Em (nm)
CF0821	DAF-FM Diacetate	496.42	495	515

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
DAF-FM Diacetate	CF0821-50μG	50 μg

储存方式

-25 ~ -15°C；干燥避光存储。

使用说明

本方案仅供参考，具体实验方案需根据细胞类型、状态及其他条件进行优化。

制备 DAF-FM Diacetate 原液

- 将试剂放至室温后再开封。建议使用前进行短暂离心，以确保试剂在试剂管底部。
- 原液制备需用高质量无水 DMSO 溶解 DAF-FM Diacetate 至一定浓度 1-10 mM。对于 50 μg 规格的产品，建议可溶解在 20 μL 高质量的无水 DMSO 中，制备出约 5 mM 的 DAF-FM Diacetate 原液。

【注】：对于 DAF-FM Diacetate DMSO 原液的保存，可将原液分装成小份，避免反复冻融。

制备 DAF-FM Diacetate 工作液

- 用合适的缓冲液（如：PBS、HBSS、无血清培养基等）稀释 DAF-FM Diacetate 原液。探针的推荐使用浓度为 1-10 μM，染色条件则需要根据特定的细胞类型、细胞或组织对探针的渗透性等因素进行优化。

【注】：1. DAF-FM Diacetate 原液可以稀释成水溶性缓冲液，但牛血清白蛋白 (BSA) 和酚红可能影响荧光，应谨慎使用。

- 工作液使用时应现用现配。

细胞染色与检测

1. 制备细胞：用载玻片（贴壁细胞）或离心管（悬浮细胞）制备活细胞，建议六孔板内贴壁细胞及悬浮细胞的密度为 1×10^6 - 2×10^7 /mL。
2. 去除细胞培养液，加入适当体积稀释好的探针工作液。加入的体积以能充分盖住细胞为宜，4°C~37°C 孵育细胞 20-60 min。贴壁细胞无需进行胰蛋白酶消化。

【注】：1. 原则上来说，以最低浓度探针检测且产生足量信噪比的荧光信号为宜。另缩短孵育时间可减少亚细胞区室化现象。

2. 若与药物反应刺激细胞，对于刺激时间较短（通常为 2 h 以内）的细胞，先与染料反应，后用适当的阳性对照及目标药物刺激细胞。对于细胞刺激时间较长（通常为 6 h 以上）的细胞，先用适当的阳性对照及目标药物刺激细胞，后与染料反应。

3. 用合适缓冲液洗涤细胞 3 次，以去除任何多余的染料工作液。
4. 更换新鲜缓冲液或培养基，然后再孵育 15-30 min，使细胞内二乙酸酯去酯化。
5. 用荧光显微镜或流式细胞仪等检测荧光，荧光激发和发射波长最大值分别为 495 nm 和 515 nm。亦或用检测 FITC 的参数设置进行检测。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

