

Fura-2, AM, Cell Permeant

Cat# CF0814

产品概述

Fura-2 AM 是钙离子比率测量的重要探针，使用 Fura-2 的 340/380 nm 激发比率，可以准确测量细胞内 Ca^{2+} 浓度。比率测量能显著降低不均匀染料负载、染料泄漏和光漂白的影响，以及与测量不均匀厚度的细胞中 Ca^{2+} 相关的问题。通常可以在一小时内测量 Fura-2 荧光，不会因泄漏或漂白而造成荧光的明显损失。Fura-2 亮度足够高，可以在染料的胞内浓度下进行测量，这不太可能引起显著的 Ca^{2+} 缓冲或 Ca^{2+} 瞬变的抑制。

此外，Fura-2 特别适用于数字成像显微镜，使用数字成像显微镜可更方便地调整激发波长，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。与 Ca^{2+} 结合后，Fura-2 表现出吸收位移，可以通过扫描激发光谱在 300nm 和 400 nm 之间观察到，而在 ~510 nm 处监测发射波长。

表 1 Fura-2, AM 的光谱特性

产品编号	产品名称	分子量 (MW)	Ex /Em(nm) Zero Ca^{2+} Conc.	Ex /Em (nm) High Ca^{2+} Conc.
CF0814	Fura-2, AM, Cell Permeant	1001.86	363 / 512	335 / 505

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Fura-2, AM, Cell Permeant	CF0814-50 μ G	50 μ g

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 Fura-2 AM 原液

1. 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。

【注】：乙酰氧基甲基酯 (Acetoxymethyl Ester, AM) 容易吸潮，请放置于干燥环境中存储。

2. 使用高质量无水 DMSO 溶解 Fura-2 AM，制备 2-5 mM 的 Fura-2 AM 原液。

【注】：1. 不可用水溶性缓冲液配制 Fura-2, AM 储存液，因为 Fura-2, AM 在水中的溶解性和稳定性较差。

2. 应使用新鲜无水的 DMSO 溶解 Fura-2 AM，否则可能会导致 AM 水解，使荧光染料无法进入细胞，影响实验效果。

3. 原液可分装保存，于 -25°C ~ -15°C 避光干燥密封保存，避免反复冻融。

制备 Fura-2 AM 工作液

1. 用 HBSS 缓冲液稀释 Fura-2 AM 原液，制备浓度为 2-20 μ M 的 Fura-2 AM 工作溶液。对于大多数细胞系，建议使用终浓度为 4-5 μ M 的 Fura-2 AM。细胞染色所需指示剂的确切浓度请根据经验确定。

- 【注】：1. 非离子洗涤剂 Pluronic F-127 用于增加 Fura-2 AM 的水溶性，可降低 Fura-2 AM 的稳定性。若 Fura-2 AM 进入细胞效果不理想，建议加入 Pluronic F-127，使其终浓度为 0.02-0.05%。但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。
2. 尽可能降低探针使用浓度，可避免探针造成的细胞毒性。
3. Fura-2, AM 工作液需现配现用，避免反复冻存。

细胞染色与检测

1. 在培养基中培养细胞过夜。
2. 使用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次，去除培养基。
3. 将 1X Fura-2 AM 工作液添加到细胞板上。
4. 在细胞培养箱中 37°C 孵育染料板 15-60 min，然后去除残留的染料工作液。

【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，查看荧光效果：如果细胞死亡较多，需适当缩短时间；如果荧光强度太弱，需适当延长时间。染料孵育超过 2 小时可以提高某些细胞系的信号强度。

5. 用合适的缓冲液（如：HBSS 缓冲液）洗涤细胞 3 次，以去除任何多余的染料工作液。
6. 用合适缓冲液重悬细胞，37°C 培养箱孵育约 20-30 min，以确保 AM 基团在细胞内的去酯化作用。

【注】：若待测细胞含有有机阴离子转运蛋白，可以在步骤 4-6 中染料工作溶液中加入有机阴离子转运蛋白抑制剂（如：终浓度为 0.5-2 mM Probenecid，丙磺舒），以减少脱酯化的染料泄漏。

7. 用荧光显微镜或流式细胞仪或数字成像显微镜等检测荧光，在 $Ex/Em_1 = 340/510\text{ nm}$ 截止到 475 nm 和 $Ex/Em_2 = 380/510\text{ nm}$ 截止到 475 nm 处测量荧光。

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.

