



Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针

产品简介

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

本品以 50ug 小包装的冻干粉形式, 用于细胞内 Ca^{2+} 水平检测时, 推荐浓度 0.5-5uM。

产品组成

名称	编号	FS1219	FS1219	Storage
Fura 2 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针		50ug	5*50ug	-20°C
使用说明书			1 份	

基本特性

CAS:108964-32-5

同义名:

1-[6-Amino-2-(5-carboxy-2-oxazolyl)-5-benzofuranyloxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, pentaacetoxymethyl ester

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

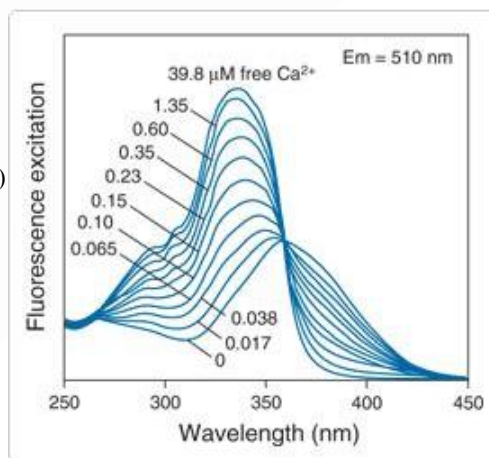
分子量: 1001.85

纯度: $\geq 98\%$ (HPLC)

外观: 黄色或橙黄色粉末

溶解性: 溶于 DMSO (1-5mM)

Ex/Em: 363/512 nm (Ca^{2+} -free), 335/505 nm (Ca^{2+} -saturated)



Fura-2,AM 激发光谱图

Tel:400-998-5068

用途: 本品仅供科研, 不得用于其它用途。

www.fsbio-mall.com

我司信息: Shanghai Fushen Biotech Co.,Ltd 或者简称(FUSHENBIO,China), (FUSHENBIO,Shanghai,China)



储存条件: 置于-20℃干燥保存, 1 年效期。冰袋运输

使用方法

A 试剂准备

1) 配制 Pluronic F-127 母液: 称取 100mg Pluronic F-127 粉末 (Cat No. FS0432) 中加入 500ul DMSO, 配制成 20%(W/V)母液。溶解过程需要在 40-50℃加热 20-30min. 溶液室温保存, 不用冷藏。如有结晶析出, 可以重新加热溶解, 不影响使用。

2) HHBS BUFFER(1X Hank' sBalanced Salt Solution with 20mM HEPES buffer,pH7.3)或者其他生理缓冲液。

B 操作步骤

1) 用无水 DMSO 溶解 Fura-2,AM 配制成 1-5mM 的储存液, 或将已配好的 Fura-2,AM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 50ug Fura-2,AM 中加入 12.5ul 无水 DMSO)。

2) 用 HHBS 或其他生理缓冲液 Fura-2,AM+DMSO 储存液稀释到 1-10uM 的工作液, 提前加入适量的 20%Pluronic F-127 溶液, 使其终浓度为 0.02%。

【注(1)】: Fura-2,AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 4-5uM, 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, 建议在取得结果的基础上尽量使用最低探针浓度。

【注(2)】: Fura-2,AM 工作液需现配使用, 避免反复冻存。

【注(3)】: Pluronic F-127 可以防止 Fura-2,AM 在溶液中聚合并促使探针更好进入细胞。但 Pluronic F-127 可降低 Fura-2,AM 的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议加入储存液长期保存。

3) **【可选】** 如果细胞内含有有机阴离子转运体, 丙磺舒 (Probenecid, 1-2.5mM) 或者, 磺吡酮 (Sulfinpyrazone, 0.1-0.25mM) 可能需要加入细胞培养基内, 以降低去酯化探针的泄露。

【注(1)】: 丙磺舒或磺吡酮储存液相当偏碱, 因此加入培养基后需要重新调整 pH。

4) 将准备好的 Fura-2,AM 工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。37℃或者室温孵育 20-60min。

【注(1)】: 关于孵育的时间, 如果首次做实验不能确定, 建议先孵育 30min, 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。

【注(2)】: 降低探针加载温度可能会降低探针的区室化现象。

5) 吸掉染色工作液, 并用 HHBS 或其他生理缓冲液 (如有必要, 使用含转运体抑制剂如 2.5mM 丙磺酸的缓冲液) 替换, 去除多余探针。

【注(1)】: Fura 2-AM 进入细胞后可以被细胞内的酯酶剪切形成 Fura 2, 从而被滞留在细胞内。Fura 2 和钙离子结合后, 最大激发波长为 335 nm(最大激发波长随离子浓度的不同而有所不同), 最大发射波长为 505nm。实际检测时推荐使用的激发波长为 340nm, 发射波长为 510 nm。如果做双波长检测, 则推荐使用的激发波长为 340 nm 和 380 nm。

注意事项

1) 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。

2) 乙酰氧基甲基酯(AM)易吸潮, 冰箱取出后请在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂微量, 开封前请将其短暂离心, 以保证粉末落入管底。

3) Fura-2,AM 在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内, 可在 20-25℃温育片刻至全部融解后使用。

4) Fura-2,AM 第一次使用, 建议储存液现配现用, 分装成单次用量, 严格做到≤-20℃密封干燥冻存, 以防止受潮。为了保证良好的实验效果, 尽量在短时间内使用。

5) Fura-2,AM 具有相对较强的抗光淬灭能力, 细胞孵育后 1h 内观察, 都不会因荧光泄露和光漂白作用导致



测定结果发生明显变化。

6) Fura-2 不适合用激光共聚焦显微镜和流式细胞仪检测，因很难用它们完成激发光谱的快速转换。

7) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS1219	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS1220	Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS1221	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS1222	Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS1223	Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS1224	Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS1225	Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS0306	Dimethyl Sulfoxide (DMSO), 二甲基亚砜 DMSO (细胞培养级)	100ml
FS0432	Pluronic® F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级	1g

