

## Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针

### 产品简介

Rhod-2 是一种高亲和力的可见光激发波长  $\text{Ca}^{2+}$  荧光探针。类似于 Fluo-3 或 Fluo-4, 其激发和发射光谱不会随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化发生明显的迁移, 荧光信号一旦与  $\text{Ca}^{2+}$  结合后明显增强。不同于 Fluo-3 或 Fluo-4, Rhod-2 的波长更长 (Ex/Em=549/578 nm), 这一特性使其更适合具高水平自荧光信号细胞或组织的  $\text{Ca}^{2+}$  水平检测, 还可用来检测由光感受器和笼锁  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂光激活导致的  $\text{Ca}^{2+}$  释放。Rhod-2, AM 是 Rhod-2 的一种乙酰甲酯衍生物, 具有细胞膜渗透性, 只需简单培养, 即可轻易进入细胞。一旦进入细胞内, 即被其内酯酶剪切生成不具膜渗透性的 Rhod-2, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。长波长钙离子探针, 能够与 GFP 和绿色荧光探针兼容。多种检测平台: 荧光成像, 流式细胞术, 酶标仪, 高内涵筛选(HCS)。

本品以冻干粉的形式提供, 使用时只需经无水 DMSO 充分溶解, 配置成 2~5mM 的储存液, 并依据具体实验和相关文献资料调整到需要的工作浓度即可。

### 产品组成

名称 / 编号	FS1224	FS1224	Storage
Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	50ug	250ug	-20℃干燥保存
使用说明书	1 份		

### 基本特性

CAS : 129787-64-0

化学名: 9-[4-[bis[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl]amino]-3-[2-[2-[bis[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl]amino]phenoxy]ethoxy]phenyl]-3,6-bis(dimethylamino)-xanthylium, monobromide

同义名: Rhod-2, Acetoxymethyl Ester

分子式:  $\text{C}_{52}\text{H}_{59}\text{BrN}_4\text{O}_{19}$

分子量: 1123.94

外观: 红色固体

最大激发/发射波长: 549/578 nm

Kd ( $\text{Ca}^{2+}$ 结合): 570nM

溶解性: 溶于 DMSO (2~5mM)

储存条件: -20℃避光干燥保存, 1 年有效。

### 使用方法 (仅供参考)

#### 一、试剂准备

1) 配制 Pluronic F-127 母液: 称取 100mg Pluronic F-127 粉末 (货号: Cat No. FS0432) 中加入 500  $\mu\text{l}$  DMSO, 配制成 20%(w/v) DMSO 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, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。

2) HHBS Buffer (1X Hank' s Balanced Salt Solution with 20mM HEPES buffer, pH 7.3) (货号: Cat No. FSH043) 或者其他生理缓冲液

#### 二、操作步骤

1) 用无水 DMSO 溶解 Rhod-2, AM 配制成 2-5mM 的储存液, 或将已配好的 Rhod-2, AM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 50 $\mu\text{g}$  Rhod-2, AM 中加入 11.1 $\mu\text{l}$  无水 DMSO (货号: Cat No. FS0306)。准备 Rhod-2, AM 工作液之前, 有时需要往 Rhod-2, AM 储存液中加入适量的 20%

Pluronic F-127 溶液, 以增强 AM 探针的水溶性。

**【注①】**: Rhod-2, AM 染色工作液制备前, 添加等体积 20% Pluronic F-127 溶液到 Rhod-2, AM+DMSO 储存液, 从而使 Pluronic F-127 的最终工作浓度约为 0.02%。

**【注②】**: Pluronic F-127 可以防止 AM 探针在溶液中聚合并促使探针更好进入细胞。但 Pluronic F-127 可降低 AM 探针的稳定性, 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。

2) 用 HHBS 或其他生理缓冲液将 Rhod-2, AM+DMSO 储存液稀释到 1-10 $\mu$ M 的工作液。

**【注①】**: Rhod-2, AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 4-5 $\mu$ 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。

**【注②】**: Rhod-2, AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

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水平。

**【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 Rhod-2, AM 工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。37 $^{\circ}$ C 孵育 20min-2h。

**【注①】**: 若使用含血清的培养基, 血清内酯酶会降解 AM, 从而降低 Rhod-2, AM 加载效果。而含酚红培养基会使本底值略偏高, 建议加入染色工作液前, 对细胞清洗 2~3 次。

**【注②】**: 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③】**: 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 丙磺舒的缓冲液) 清洗细胞 1~2 次, 以去除残留探针。

6) 室温再孵育 30min 以保证细胞内 AM 的完全去酯化。

7) 用适当的仪器如激光共聚焦、流式细胞仪、荧光酶标仪, 以及波长 Ex/Em=549/578 nm 来进行检测。

## 注意事项

1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

2) 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。

3) Rhod-2 从低浓度 Ca<sup>2+</sup>到高浓度 Ca<sup>2+</sup>的荧光增强程度低于 Fluo-3, Rhod-2 的荧光信号弱于 Fluo-3。

4) 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。

5) Rhod-2, AM 在 4 $^{\circ}$ C、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 $^{\circ}$ C 温育片刻至全部融解后使用。

6) Rhod-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 $\leq$ -20 $^{\circ}$ C 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。

## 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	50 $\mu$ g
FS1220	Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 $\mu$ g
FS1221	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 $\mu$ g
FS1222	Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 $\mu$ g
FS1223	Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 $\mu$ g
FS1225	Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 $\mu$ g
FS0432	Pluronic <sup>®</sup> F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级	1g