

Cal-520 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针

产品简介

钙离子测定在各种生理活动中发挥着重要作用，与钙离子结合从而表现出光谱反应的荧光探针使得研究人员能够观察胞内游离钙离子水平变化，通过荧光显微镜、流式细胞仪、荧光光度计和荧光酶标板来检测。

新一代钙离子荧光探针：Cal-520，Cal-590 和 Cal-630 是最强大且均一的细胞内钙流 (Calcium mobilization) 测定用荧光探针，与传统的钙离子探针 (比如: Fluo-3 AM、Fluo-4 AM 和 Rhod-2 AM) 相比，具有明显改善的信噪比和细胞内滞留性。

Cal-520 AM, Cal-590 AM 和 Cal-630 AM 具有细胞膜渗透性，能够预加载进入细胞。一旦进入细胞后，亲脂阻断基团 AM 被酯酶裂解，产生带负电荷的荧光染料，留在细胞内部。一旦与钙离子结合后，它们的荧光显著加强。当细胞被激动剂刺激后，受体发出细胞内钙释放的信号，从而使得 Cal-520, Cal-590 和 Cal-630 的荧光增加。Cal-520 AM, Cal-590 AM 和 Cal-630 AM 的高灵敏度以及 >100 倍的荧光增强使其成为胞内钙离子测定的理想探针。高信噪比和更加的胞内滞留性使其成为评估 GPCR 和钙离子通道靶标以及筛选对应激动剂和拮抗剂的优秀工具。

Cal-520, Cal-590 和 Cal-630 基本定位在细胞质，不像 Rhod-2 主要定位在线粒体。Cal-590 和 Cal-630 的长激发/发射波长使其为完美的钙离子探针，能够与绿色荧光蛋白 (GFP) 标记细胞兼容多色检测。另外，Cal-520, Cal-590 和 Cal-630 也与绝大多数现存的荧光仪器兼容。Cal-520 在 488nm 处被良好激发，用 FITC 滤片检测；Cal-590 经优化在 555nm 处被良好激发，用 TRITC/Cy3 滤片检测；Cal-630 经优化在 594nm 处被良好激发，用 Texas Red 滤片检测；

产品组成

名称	FS1500	FS1500	Storage
Cal-520 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	50ug	100ug	-20℃干燥保存
使用说明书	1 份		

基本特性

同义名: Cal-520, Acetoxymethyl Ester;

分子量: 1102.95

解离常数: $K_d=320$ nM

最大激发/发射波长: 493/515 nm

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 μ 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 Cal-520 AM 配制成 2-5mM 的储存液, 或将已配好的 Cal-520 AM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 50 μ g Cal-590 AM 中加入 11.3 μ l 无水 DMSO)。

2) 用 HHBS 或其他生理缓冲液将 Cal-520 AM+DMSO 储存液稀释到含 0.04% Pluronic F-127 的 10-20 μ M 染色工作液。

【注①】: 添加一定量的 20% Pluronic F-127 溶液到 Cal-520 AM+DMSO 储存液, 使 Pluronic F-127 的浓度约为 0.04%。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。

【注②】: Cal-520 AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 4-5 μ 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③】: Cal-520 AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

3) **【可选】** 如果细胞内 (比如 CHO 细胞) 含有机阴离子转运体, 丙磺舒 (Probenecid, 1-2mM) 可能需要加入上述染色工作液内 (在孔内的最终浓度为 0.5-1mM), 以降低去酯化探针的泄露水平。

【注④】: 我司提供多种丙磺舒: 包括水溶性的丙磺舒 (CAT:#FS0498), 能降低有机溶剂的使用。

4) 加入等体积的染色工作液到细胞培养孔内, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60-90min。然后, 室温再孵育 30min。

【注⑤】: 某些细胞系探针的加载时间长于 2h 能提供更好的信号。

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 1mM 丙磺舒的缓冲液) 清洗细胞 1~2 次, 以去除残留探针。

6) 之后在 HHBS 或其他生理缓冲液 (如有必要, 使用含转运体抑制剂如 1mM 丙磺舒的缓冲液) 中, 用合适的激发/发射波长来检测荧光 (见产品特性: Cal-520 AM 的激发和发射光谱)。

【注⑥】 建议用黑框/透明底的 96 孔板;

附录 I Cal-520, Cal-590 或 Cal-630 钙离子探针的波长和钙离子结合特性

产品货号	产品名称	激发波长 (nm)	发射波长 (nm)	解离常数 Kd (nM)
FS1500	Cal-520	492	514	320
FS1501	Cal-590	558	584	561
FS1502	Cal-630	607	623	792

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) Cal-520, 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。

4) Cal-520, 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。

5) 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
Fs1224	Rhod-2, AM, 钙离子荧光探针, 超级纯	50ug
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
FS1225	Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50μg
FS0432	Pluronic® F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级	1g
FS0498	水溶性丙磺舒	1g
FS1500	Cal-520 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	50ug
FS1501	Cal-590 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	50ug
FS1502	Cal-630 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	50ug

