

Fura-2, AM

货号: F8460

CAS#: 108964-32-5

中文名: 钙荧光探针 Fura-2, AM

英文名:

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

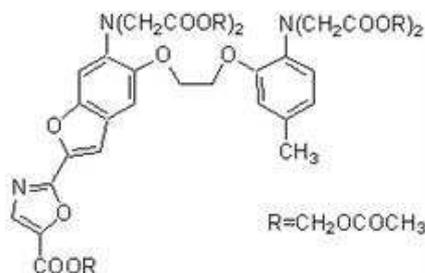
结构式:

分子式: C₄₄H₄₇N₃O₂₄

分子量: 1001.85

性质:

1. 外观: 黄色或橙黄色粉末
2. 纯度: ≥95% (HPLC)
3. 使用方法 (以50 μg 为例)



母液配制: 用49.9 μl 二甲基亚砜(DMSO)溶解50 μg 的Fura 2-AM 粉末配制成1 mmol/l 的Fura 2-AM 母液。-20℃避光密封保存。使用前根据实验需要稀释成合适的浓度。

如果想配其他浓度母液的话, 请按照如下公式进行操作: * B=49.9/A; 其中A为Fura 2-AM的母液浓度 (mmol/l); B为DMSO的体积 (μl)。

1、用HBSS 溶液稀释1-5 mmol/l 的Fura 2-AM 母液, 配制成1-5 μmol/l 的Fura 2-AM 工作液。

(此浓度仅供参考, 请根据具体实验要求自行调整)

例如: 1 mmol/l 母液配制1 ml 浓度为5 μmol/l 工作液的方法: 用1 ml HBSS 溶液稀释5 μl 母液即可。

如果Fura 2-AM进入细胞的效果不好, 可使用Pluronic[®] F-127, 后者可以防止Fura 2-AM在缓冲液里聚合并能促进其进入细胞。* Pluronic[®] F-127 先用DMSO溶解至浓度为20% (W/V) 然后根据实验需要直接加入Fura 2-AM工作液中至终浓度为0.04-0.05% (此浓度仅供参考, 请根据具体实验要求自行调整)

2、取出预培养的细胞, 除去培养基, 使用HBSS 溶液洗涤细胞3 次。如果使用含血清的培养基, 血清中的酯酶会分解 AM 体, 从而降低 Fura 2-AM 进入细胞的效果。另外含有酚红的培养基会使本底值略微偏高, 所以加工作液之前需尽量去除培养基残留。

3、加入Fura 2-AM 工作液, 溶液量以覆盖细胞为准。

4、37℃细胞培养箱孵育10-60 分钟, 除去 Fura 2-AM 工作液。关于孵育的时间, 如果首次做实验不能确定, 建议先孵育 30 分钟, 看荧光效果: 如果细胞死亡较多, 缩短时间; 荧光强度太弱, 延长时间。

5、用HBSS 溶液洗涤细胞3 次, 以充分去除残留的Fura 2-AM 工作液。然后加入HBSS 溶液覆盖细胞。

6、37℃培养箱孵育约20-30 分钟, 以确保AM 体在细胞内的完全去酯化作用。如果细胞内酯酶活性

较低，建议严格按照此操作进行；酯酶活性高的细胞实验，可以忽略此步。

7、用流式细胞仪或其它设备检测细胞，激发波长380 nm（Fura 2）和340 nm（钙离子-Fura 2）发射波长510 nm。

计算公式：

胞内游离Ca²⁺浓度= $K_d (F_0/F_s)(R-R_{min}) / (R_{max}-R)$ *式中K_d 值为224 nmol/l，F₀ 和F_s分别代表Ca²⁺为零及饱和状态下测得的荧光强度，R为实验观察到的荧光比值，R_{max} 和R_{min} 分别为最大和最小的荧光比值。

*标记的条件因细胞种类而异，在每次实验前，请先确定最佳条件。以上方法仅供参考。

注意事项：

- 1、试剂容易吸潮，从冰箱取出后，请确认在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂极其微量，开封前，请轻弹管壁几次，以保证粉末落入管底。
- 2、第一次使用时，建议母液即配即用。试剂溶解后尽可能在短时间内使用，以保证实验效果。
- 3、溶解液DMSO 需要保证新鲜无水，否则将会导致AM 体水解，使荧光染料无法进入细胞，影响实验效果。
- 4、母液遇水极易分解，如果不能一次用完，建议分装保存，例如分装成5 μl/管，用封口膜封口，并用铝箔纸包裹，放在一个密闭性能好的塑料袋中，并放入一包干燥剂，在≤-20℃密封避光保存。
- 5、建议您在正式实验前先摸索一下细胞量、钙离子荧光探针的终浓度、培养时间等，找到最佳实验条件。