

## Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7641-50ug	Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50ug
NBS7641-250ug	Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	5x50ug

**【温馨提示】:** 见我司整理的钙离子载体/探针 (Calcium ionophores/indicators) 产品专题。

### 产品简介:

Rhod-2 虽然是最受欢迎的红色荧光  $\text{Ca}^{2+}$  荧光探针, 但 Rhod-2 的线粒体定位和细胞中高基底  $\text{Ca}^{2+}$  信号使其在某些细胞应用中严重受限制。另外, Rhod-2 在 488nm 处很不理想的激发波长使其在某些只有 488nm 激发光源的仪器比如 FLIPRTM 上信号很弱。Rhod-4 正是根据这些缺陷而改进的, 具有以下特征:

1) Rhod-4 的最大激发和发射波长是 530nm 和 555nm。虽 Rhod-4 最大激发波长是 530nm, 但在 488nm 处激发下的信号也相当强 (见 Fig 1)。除了能在 514nm, 532nm 和 546nm 的长波长激发之外, Rhod-4 用氩离子激发器在 488nm 激发下也能得到理想的荧光信号。Rhod-4 随着增加的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度荧光信号而增强 (555nm 发射波长), 一旦与  $\text{Ca}^{2+}$  结合荧光约增强 > 200 倍。由于许多细胞受刺激后的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度提高通常是 5~10 倍, 因此, Rhod-4 是一款优秀的检测此范围内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化的高灵敏探针。

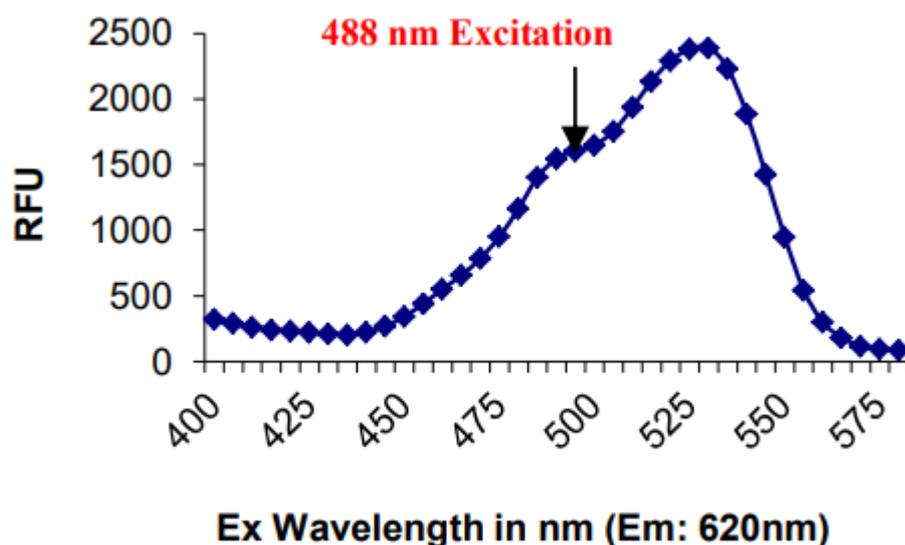


Fig 1, Rhod-4 钠盐在含氯化钙体系内的激发光谱特征。

2) 一旦受激动剂刺激后, Rhod-4 在细胞内的荧光明显强于 Rhod-2 (信噪比)。更重要的是, Rhod-4 主要定位在细胞胞浆内, 不像 Rhod-2 主要定位在线粒体。另外, Rhod-4

具更低的温度依赖性的细胞加载特性，不管室温还是 37°C 产生相似的结果。这一特征使 Rhod-4 比 Rhod-2 在 HTS 应用中更有优势。

Rhod-4, 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-4，从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。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。

### 基本特性：

- 1) 同义名：Rhod-4, Acetoxymethyl Ester
- 2) 分子量：1015.96
- 3) 外观：红色固体
- 4) 最大激发/发射波长：530/555 nm
- 5) Kd (Ca<sup>2+</sup>结合)：525NM
- 6) 溶解性：溶于 DMSO (2~5mM)

### 保存条件：

-20°C 干燥避光保存，至少一年有效。

**产品使用：**【注意】以下使用方法仅用作参考，可根据具体的实验条件做出调整。

#### A, 试剂准备

- 1) 配制 Pluronic F-127 母液：称取 100mg Pluronic F-127 粉末 (货号：NBS2009) 中加入 500μl DMSO，配制成 20%(w/v) DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50°C 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) 或者其他生理缓冲液

#### B, 操作步骤

- 1) 用无水 DMSO 溶解 Rhod-4, AM 配制成 2-5mM 的储存液，或将已配好的 Rhod-4, AM 储存液取出于室温回温。(如：若配制成 4mM 的母液，需向 50μg Rhod-4, AM 中加入 12.3μl 无水 DMSO)。准备 Rhod-4, AM 工作液之前，有时需要往 Rhod-4, 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-4, AM 染色工作液制备前，添加等体积 20% Pluronic F-127 溶液到 Rhod-4,

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-4, AM+DMSO 储存液稀释到 1-10 $\mu$ M 的工作液。

【注①】: Rhod-4, 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-4, 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 (Sulfipyrazone, 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-4, AM 工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。室温或 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min-1h。

【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-4, 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=530/555 nm 来进行检测。

### 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. Rhod-4, 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. Rhod-4, 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 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 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。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

#### 相关产品:

产品编号	产品名称	CAS NO.	包装规格
<u>NBS2009-1g</u>	<u>Pluronic®F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级</u>	9003-11-6	1g
<u>NBS2010-1ml</u>	<u>Pluronic® F-127 (20% Solution in DMSO), Cell Culture Tested</u>	9003-11-6	1ml
<u>NBS7636-50ug</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	121714-22-5	50ug
<u>NBS7637-1mg</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	121714-22-5	1mg
<u>NBS7638-50ug</u>	<u>Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	273221-67-3	50ug
<u>NBS7639-50ug</u>	<u>Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	N/A	50ug
<u>NBS7640-50ug</u>	<u>Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	129787-64-0	50ug
<u>NBS7641-50ug</u>	<u>Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	N/A	50ug
<u>NBS7642-50ug</u>	<u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	108964-32-5	50ug
<u>NBS7643-1mg</u>	<u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	108964-32-5	1mg
<u>NBS7644-50ug</u>	<u>Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	112926-02-0	50ug
<u>NBS7645-1mg</u>	<u>Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	112926-02-0	1mg