

Fluo-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7658-100ug	Fluo-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	2x50ug
NBS7658-500ug	Fluo-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	10x50ug

【务必注意】：初次使用离子探针的用户，强烈建议配合：Pluronic F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级 (NBS2009-1g) 一起使用，以提高探针的水溶性和胞内加载性。

产品简介：

Fluo-5N 是 Fluo-4 的结构类似物，具更低的钙结合亲和力，使其非常适用于钙水平在 $1\mu\text{M}$ ~ 1mM 区间内的胞内钙离子检测，而 Fluo-3 和 Fluo-4 在这个区间内的钙离子反应达到饱和。Fluo-5N 与氩离子激光器的 488nm 激发光兼容，使其适用于共聚焦显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等仪器。激发和发射波长分别是 494 和 516nm。一旦与钙离子结合，荧光强度增加大于 100 倍，波长迁移非常少。

Fluo-5NAM 是 Fluo-5N 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。

产品特性

- 1) 同义名：Fluo-5N, Acetoxymethyl Ester;
- 2) 分子式： $\text{C}_{50}\text{H}_{47}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_{25}$
- 3) 分子量：1127.92
- 4) Ex/Em：494/516nm (Ca^{2+} -bound)
- 5) 解离常数：~ $90\mu\text{M}$
- 6) 纯度：≥95% (HPLC)
- 7) 溶解性：溶于 DMSO (5mM)

保存条件：

-20°C 干燥避光保存，有效期至少 1 年。

产品使用：

A, 试剂准备

- 1) 配制 Pluronic F-127 母液：称取 100mg Pluronic F-127 粉末（货号：NBS2009-1g）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°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 7.2) 或者其他生理缓冲液

B, 操作步骤

- 1) 用无水 DMSO 溶解 Fluo-5NAM 配制成 2-5mM 的储存液，或将已配好的 Fluo-5NAM 储存液取出于室温回温。（如：若配制成 4mM 的母液，需向 50 μ g Fluo-5NAM 中加入 11 μ l 无水 DMSO）。准备 Fluo-5NAM 工作液之前，有时需要往 Fluo-5NAM 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】：Fluo-5N AM 染色工作液制备前，添加一定体积的 20% Pluronic F-127 溶液到 Fluo-5NAM+ DMSO 储存液，从而使 Pluronic F-127 的最终工作浓度约为 0.02%。

- 2) 用 HHBS 或其他生理缓冲液（含钙镁）将 Fluo-5NAM+DMSO 储存液稀释到 1-20 μ M 的工作液。

【注①】：Fluo-5N 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。

- 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, 1-2.5mM）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。

- 4) 将准备好的 Fluo-5NAM 染色工作液加入细胞，加入量以覆盖细胞为准。室温或 37°C 孵育 20-120min。

【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 Fluo-5NAM 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。

- 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) 室温再孵育 30min 以保证细胞内 AM 的完全去酯化。

- 7) 用合适的激发/发射波长来检测荧光。

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. Fluo-5NAM 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. Fluo-5NAM 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它用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS7636-50ug</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	50ug
<u>NBS7637-1mg</u>	<u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>	1mg
<u>NBS7638-50ug</u>	<u>Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	50ug
<u>NBS7639-50ug</u>	<u>Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	50ug
<u>NBS7640-50ug</u>	<u>Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>	50ug
<u>NBS7642-50ug</u>	<u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>	50ug
<u>NBS7652-1mg</u>	<u>Fluo-3 Pentapotassium Salt Fluo-3 五钾盐</u>	1mg
<u>NBS7653-1mg</u>	<u>Fluo-3 Pentasodium Salt Fluo-3 五钠盐</u>	1mg
<u>NBS7654-500ug</u>	<u>Fluo-4 Pentapotassium Salt Fluo-4 五钾盐</u>	10x50ug
<u>NBS7657-500ug</u>	<u>Fluo-5N Pentapotassium Salt, Cell Impermeant 钙离子荧光探针</u>	500ug
<u>NBS7658-100ug</u>	<u>Fluo-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	2x50ug
<u>NBS7660-1mg</u>	<u>Rhod-5N AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	1mg
<u>NBS7661-100ug</u>	<u>Fura Red, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	2x50ug
<u>NBS7662-500ug</u>	<u>Fura-FF AM , Cell Permeant 钙离子荧光探针</u>	10x50ug