

DAF-FM DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针 (固体粉末)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5934-50ug	DAF-FM DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针 (固体粉末)	50ug
NBS5934-250ug	DAF-FM DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针 (固体粉末)	5x50ug
NBS5934-500ug	DAF-FM DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针 (固体粉末)	10x50ug
NBS5934-1mg	DAF-FM DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针 (固体粉末)	1mg

产品简介:

DAF-FM DA, 也称为 DAF-FM Diacetate, 或 4-Amino-5-Methylamino-2',7'-Difluorofluorescein Diacetate, 是新一代用于检测和定量一氧化氮 (Nitric oxide, NO) 的荧光探针。具有细胞膜渗透性, 无荧光。一旦进入细胞后, 被细胞内的酯酶催化形成不具有膜渗透性的 DAF-FM。DAF-FM 本身仅有弱荧光, 但和 NO 反应后可产生强烈荧光, 最大激发波长为 495nm, 最大发射波长为 515nm。任何可以检测荧光素的仪器都能检测, 包括流式细胞仪、荧光显微镜、荧光酶标板和荧光计。

与传统的 NO 荧光探针—DAF-2 DA 相比, DAF-FM DA 具有以下重要优势: a) DAF-FM-NO 加合物的光谱特性在 pH 5.5 以上不受 pH 影响; b) DAF-FM-NO 加合物具有更显著的光稳定性, 意味其提供更多的时间来捕捉图像; c) DAF-FM 对 NO 的检测灵敏度更高, 前者的检测下限~3nM; 而 DAF-2 的检测下限~5nM。

本品以固体粉末形式提供, 需用无水的 DMSO 溶解, 用合适的生理缓冲液或新鲜培养基 (不含血清和酚红) 稀释到相应的工作浓度即可, 建议起始工作浓度范围是 1-10 μ M。

产品特性:

- 1) CAS NO.: 254109-22-3
- 2) 化学名:
3',6'-bis(acetyloxy)-4-amino-2',7'-difluoro-5-(methylamino)-spiro[isobenzofuran-1(3H),9'-[9H] xanthen]-3-one
- 3) 英文同义名: DAF-FM Diacetate; 4-Amino-5-Methylamino-2',7'-Difluorofluorescein Diacetate; 3-Amino, 4-aminomethyl-2',7'-difluorofluorescein Diacetate;

Diaminofluorescein-FM diacetate;

4) 中文同义名: DAF-FM 二乙酸盐; 二氨基荧光素-FM 二乙酸盐; 4-氨基-5-甲氨基-2',7'-二氟荧光素二乙酸盐; 3-氨基, 4-氨甲基-2',7'-二氟荧光素二乙酸盐;

5) 分子式: C₂₅H₁₈F₂N₂O₇

6) 分子量: 496.42

7) 纯度: ≥98% (HPLC)

8) 外观: 无色至淡黄色溶液

9) Ex/Em: ~495/515 nm (DAF-FM)

保存条件:

-20°C避光干燥保存, 1 年有效。

产品使用:

一、工作液制备

取用 50ug DAF-FM DA 加入新鲜无水的 DMSO 20.1442 μL 溶解至浓度为 5mM, 用合适的生理缓冲液或新鲜培养基 (不含血清和酚红) 稀释到相应的工作浓度即可, 探针的推荐使用浓度为 1-10μM, 初次使用需根据自身实验体系来进行加载浓度。比如取 5μl DAF-FM DA(5mM)按照 1: 1000 的比例稀释到 5ml DAF-FM DA(5μM)工作液, 充分混匀。

【注意】工作液必须现配现用, 实验结束后需丢弃多余探针。由于染料在水溶液中更容易氧化分解, 为此, 请尽快用完。

【注意】探针的最佳工作浓度需根据自身的细胞类型或实验条件来摸索, 或参考文献。一般情况下, 在保证获得足量荧光信号的前提下, 尽量选择最小浓度的探针, 这样可尽量减少酯的水解副产物如甲醛和乙酸的富集。

二、探针装载

对于刺激时间较短 (通常为 2h 以内) 的细胞, 先装载探针, 后用适当的阳性对照及自己感兴趣的药物刺激细胞。对于细胞刺激时间较长 (通常为 6h 以上) 的细胞, 先用适当的阳性对照及自己感兴趣的药物刺激细胞, 后装载探针。

2.1 探针原位装载 (仅适用于贴壁细胞)

a) 去除细胞培养液, 加入适当体积准备好的 DAF-FM DA 工作液 (比如按 1: 1000 倍稀释后的工作液)。加入的体积以能充分盖住细胞为宜, 通常对于六孔板的一个孔加入工作液体积为 1ml。

b) 37°C孵育 20min。

c) 用 PBS, pH7.4 洗涤细胞 3 次, 以充分去除未进入细胞内的 DAF-FM DA。

2.2 收集细胞后探针装载

a) 细胞收集后, 用适当体积准备好的 DAF-FM DA 工作液 (比如按 1: 1000 倍稀释后的工作液) 重悬细胞, 使得细胞浓度为二百万至二千万/毫升。

b) 37°C 孵育 20min。以上操作可以在离心管内进行。每隔 3-5 分钟颠倒混匀一下, 使探针和细胞充分接触。c) 用 PBS, pH7.4 洗涤细胞 3 次, 以充分去除未进入细胞内的 DAF-FM DA。

d) 直接用适当的阳性对照或自己感兴趣的药物刺激细胞, 或把细胞等分成若干份后再刺激细胞。

三、荧光检测

3.1 对于原位装载探针的样品: 可以用激光共聚焦显微镜直接观察 (用普通的荧光显微镜观察效果相对较差), 或收集细胞后用荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测。

3.2 对于收集细胞后装载探针的样品: 可以用荧光分光光度计、荧光酶标仪或流式细胞仪检测, 用激光共聚焦显微镜直接观察也可以。

3.3 参数设置: 使用 495nm 激发波长, 515nm 发射波长, 实时、逐时间点或单时间点检测刺激前后荧光的强弱。DAF-FM-NO 反应产物的荧光光谱和荧光素 (Fluorescein) 非常相似, 可以用检测荧光素的参数设置进行检测, 用检测 FITC 的参数设置进行检测也可以。

四、其他说明

4.1 上述步骤推荐 DAF-FM DA 的工作浓度为 5 μ M。对于某些细胞, 如果发现没有刺激的阴性对照细胞荧光也比较强, 可以按照 1:2000-1:5000 的比例稀释 DAF-FM DA, 使装载探针时 DAF-FM DA 的工作浓度为 1-2.5 μ M。相反, 如果发现用感兴趣的药物刺激后荧光较弱, 可以把 DAF-FM DA 的工作浓度为调整为 10 μ M, 以提高检测的灵敏度。

4.2 探针装载的时间可以根据情况在 15-60min 内适当进行调整。

注意事项:

1. DAF-FM DA 在 4°C、冰浴等较低温度下会凝固而粘附在离心管管底、管壁或管盖内, 可在 25°C 温育片刻直至完全溶解后再使用。
2. 第一次使用本品, 请置于室温或 25°C 温育片刻直至完全溶解后, 低速离心后, 根据单次用量分成小包装后 -20°C 避光干燥保存, 避免反复冻融。
3. BSA 和酚红对 DAF-FM 的荧光检测有干扰, 请避免体系内含有这些组分。
4. 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	用途
<u>NBS5870-5mg</u>	<u>Carboxy-PTIO (cPTIO) 一氧化氮 (NO) 清除剂</u>	一氧化氮 (NO) 清除剂
<u>NBS5933-25mg</u>	<u>PTIO 一氧化氮 (NO) 清除剂</u>	一氧化氮 (NO) 清除剂
<u>NBS5934-50ug</u>	<u>DAF-FM DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针 (固体粉末)</u>	细胞水平的一氧化氮 (NO) 荧光探针
<u>NBS5935-100T</u>	<u>DAF-FM DA (5mM in DMSO) 一氧化氮 (NO) 荧光探针</u>	细胞水平的一氧化氮 (NO) 荧光探针
<u>NBS5936-100ug</u>	<u>DAF-2 DA 一氧化氮 (NO) 荧光探针</u>	细胞水平的一氧化氮 (NO) 荧光探针
<u>NBS5937-100ug</u>	<u>DAF-2 一氧化氮 (NO) 荧光探针</u>	溶液体系的一氧化氮 (NO) 荧光探针
<u>NBS5938-100ml</u>	<u>Lysis Buffer for Nitric Oxide Assay</u>	一氧化氮 (NO) 分析专用裂解液
<u>NBS5939-500T</u>	<u>Nitric Oxide Colorimetric Assay Kit</u>	一氧化氮 (NO) (显色法), 定量检测细胞、组织或培养液内的亚硝酸盐量, 间接反映一氧化氮水平。
<u>NBS5940-50T</u>	<u>Total Nitric Oxide Colorimetric Assay Kit</u>	总一氧化氮 (NO) (显色法), 定量检测细胞、组织或培养液内的亚硝酸盐量, 间接反映总一氧化氮水平。
<u>NBS5941-25g</u>	<u>Sodium Nitroprusside (SNP)</u>	一氧化氮 (NO) 供体
<u>NBS5942-5mg</u>	<u>S-Nitrosoglutathione (GSNO)</u>	一氧化氮 (NO) 供体