

新型钙离子荧光探针 Calbryte520, AM

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7701-100ug	新型钙离子荧光探针 Calbryte520, AM	2x50ug
NBS7701-500ug	新型钙离子荧光探针 Calbryte520, AM	10x50ug
NBS7701-1mg	新型钙离子荧光探针 Calbryte520, AM	20x50ug

【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。

产品简介：

钙离子检测在生命科学研究中具有关键作用。基于荧光探针与钙离子结合的光谱响应特性，研究人员可通过荧光显微镜、流式细胞仪、荧光光谱和荧光酶标仪等技术精确监测细胞内游离钙离子浓度的动态变化。自 1989 年 Fluo-3 问世以来，后续开发的 Fluo-4、Fluo-8 和 Cal-520 系列探针虽提升了信背比，但 Fluo-4 仍存在显著缺陷：与 Fluo-3 类似，几乎所有基于 Fluo-4 的胞内钙检测都必须使用丙磺舒（probenecid）来防止探针外泄，而该抑制剂已被证实会产生复杂的细胞效应，严重影响检测结果。

Calbryte™ 520 通过革命性突破解决了这一技术难题——其显著提升的信噪比和优化的胞内滞留特性（无需丙磺舒），使其成为目前最可靠的钙检测工具。该探针与 Fluo-4 具有完全一致的激发/发射波长，可直接兼容现有 Fluo-4 检测系统的所有参数设置，为研究人员提供了更精准、更便捷的实验方案。

产品优势：

- 1.低背景荧光：**与 Ca^{2+} 结合后显著增强荧光信号，能有效降低背景干扰，提高检测灵敏度。
- 2.多色兼容性：**绿色荧光，适用于多通道成像
- 3.细胞膜通透性：**疏水性 AM 酯可被动穿透细胞膜，被胞内酯酶水解后形成带负电荷的荧光染料，实现简单负载

产品特性：

- 1) 分子量：1090.90
- 2) 溶剂：DMSO

3) 解离常数 (Kd, nM): 1200

4) Ex/Em: 493/515

保存条件:

-20°C避光保存

产品使用:

一、储备溶液的配制

除非另有说明, 所有未使用的储备液应在配制后分装为单次使用量, 并保存于-20°C。避免反复冻融。

Calbryte520, AM 储备溶液

使用高质量无水 DMSO 配制 2-5 mM 的 Calbryte520, AM 储备液。请注意, 体积仅用于制备储备溶液。有关适当的实验/生理缓冲液, 请参阅样品实验方案。

	0.1mg	0.5mg	1mg	5mg
1mM	91.667 μ L	458.337 μ L	916.674 μ L	4.583mL
5mM	18.333 μ L	91.667 μ L	183.335 μ L	916.674 μ L
10mM	9.167 μ L	45.834 μ L	91.667 μ L	458.337 μ L

注意: Calbryte520, AM 溶于 DMSO 后为无色透明溶液。

二、工作溶液配制

Calbryte520, AM 工作溶液

实验当天, 将 Calbryte520, AM 溶解于 DMSO 或将储备液 aliquot 解冻至室温。在所选缓冲液 (如 Hanks 和 Hepes 缓冲液) 中加入 0.04% Pluronic F-127, 配制 2-20 μ M 的 Calbryte520, AM 工作液。对于多数细胞系, 推荐终浓度为 4-5 μ M。具体染料加载浓度需根据实验条件优化。

注意 1: 非离子型表面活性剂 Pluronic F-127 可增强 Calbryte520, AM 的水溶性。

注意 2: 若细胞存在有机阴离子转运体, 可在工作液中加入 1-2 mM 丙磺舒(货号:NBS2007) (孔板终浓度 0.5-1 mM) 以减少水解后染料的泄漏。我司提供多种丙磺舒: 包括水溶性的丙磺舒 (NBS2008-154MG), 能降低有机溶剂的使用。

三、实验操作流程

以下为活细胞加载 AM 酯的推荐方案, 请根据实际需求调整。

1. 将细胞于生长培养基中孵育过夜。
2. 次日向细胞板中加入 1X Calbryte520, AM 工作液。

注意：若待测化合物与血清存在干扰，加载前需更换为新鲜 HHBS 缓冲液。

3. 将加载染料的细胞板置于 37°C 培养箱孵育 1-2 小时。
4. 移除工作液，更换为 HHBS 或含阴离子转运抑制剂（如 1 mM 丙磺舒）的缓冲液以清除多余探针。
5. 加入刺激剂后，立即使用配备 FITC 滤光片的荧光显微镜或者具备程序化液体处理系统的荧光酶标仪（如 FDSS、FLIPR 或 FlexStation）Ex/Em = 490/525 nm，截止波长 515 nm 检测荧光信号

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. 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！