

## FDA 活细胞荧光示踪探针；荧光素二乙酸酯；Fluorescein diacetate

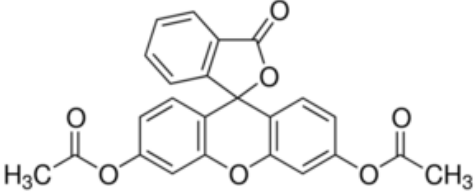
产品编号：MB5276

质量标准：>97%,BR

包装规格：1G

产品形式：白色至微黄色粉末

### 基本信息

分子式	C24H16O7	结 构 式	
分子量	416.38		
CAS No.	596-09-8		
储存条件	2-8°C，避光防潮密闭干燥		
溶解性 (25°C)	DMSO: ≥ 48 mg/mL 丙酮：25 mg/mL		
注意事项	溶解性是在室温下测定的，如果温度过低，可能会影响其溶解性。		
其他说明	为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。		

**简介：**Fluorescein diacetate 是一种细胞渗透性的酯酶底物。Fluorescein diacetate 可作为人谷胱甘肽硫转移酶 Pi (hGSTP1-1) 的荧光底物。

### 物理性状及指标：

外观：.....白色至微黄色粉末

熔点：.....200-203 °C(lit.)

溶解性：.....DMSO: ≥ 48 mg/mL；丙酮：25 mg/mL

纯度：.....>97% ( HPLC )

吸光度：.....Ex (nm)494；Em (nm)521

敏感性：.....对空气敏感

### 生物活性

<b>产品描述</b>	荧光素二乙酸酯是一种可渗透的酯酶-基质。荧光素二乙酸酯可作为 hGSTP1-1 的荧光基质。
<b>体外研究</b>	<p>荧光素(FDA)是绿色荧光染料荧光素的一种乙酰化衍生物。荧光素(FDA)是一种荧光探针，用于重要的染色，是一种荧光活性物质，在不同的细胞质 GSTs 中有选择性地激活了人类 pi 类谷胱甘肽 S-transferase (hGSTP1)的酯酶活性。在 MCF7 细胞外源性过表达 hGSTP1 的 MCF7 细胞中，观察到荧光素对 GST 抑制剂的荧光激活，但在表达 hGSTA1 或 hGSTM1 的细胞中不存在。荧光素二乙酸酯可作为 hGSTP1-1 的荧光基质。为了研究荧光激活是由于 hGSTP1 活性，荧光素二乙酸在体外培养重组 hGSTP1-1 和 GSH。在 hGSTP1-1 和 GSH 的存在中观察到显著的荧光激活，而在没有它们的情况下或当酶处于热失活状态时，只观察到轻微的激活。这说明荧光素二乙酸的荧光激活依赖于 hGSTP1-1 活性。从增长率之间的线性关系在荧光和 hGSTP1-1 浓度,酶的特定活动 1μM 荧光素二乙酸盐决心 79 nmol / 15 分钟/毫克的蛋白质。荧光素二乙酸盐可作为一种荧光基板，用于测定 GSTP1-1 的体外抑制剂。作为底物的荧光素二乙酸酯和 NBDHEX 都以浓度依赖性的方式抑制 hgstp1 -1 依赖的荧光增加，ic50 分别为 3.3 0.5 M 和 0.61 0.04 M。</p>

**用途及描述：**科研试剂，广泛应用于分子生物学，药理学等科研方面，严禁用于人体。FDA 是一种非荧光性疏水性荧光素衍生物，它可以穿透细胞膜进入细胞，通过细胞内酯酶催化水解二乙酸酯基团产生具有高强度的荧光产物荧光素。荧光分子在具有完整细胞膜的细胞内积累，因此这种绿色荧光可以作为一种细胞活力的标签。不具有完整细胞膜或者新陈代谢活性的细胞，不能在细胞内积累荧光产物，因此不能显现绿色荧光。FDA 可以与染料 PI 联合使用，无活性的死细胞被 PI 着色，发出红色荧光；有活性的细胞 PI 无法着色，在 FDA 作用下，紧发出绿色荧光。这两种颜色可以很好的辨别死细胞与活细胞，与单一颜色检测相比，它提供了一种更为准确的活细胞定量检测方法

#### 储液配置

体 积 浓度	质 量 1 mg	5 mg	10 mg
1 mM	2.4017 mL	12.0083 mL	24.0165 mL
5 mM	0.4803 mL	2.4017 mL	4.8033 mL
10 mM	0.2402 mL	1.2008 mL	2.4017 mL

#### 经典实验操作（仅供参考）

<b>细胞实验</b>	MCF7 细胞( $2 - 3 \times 10^5$ )播种在 35 毫米玻璃底部盘前的实验。在成像之前，用 1ml PBS 冲洗细胞，然后用 1ml 的 Hanks 的平衡盐溶液孵育(HBSS(+))不含苯酚红，其中含有 1 M 荧光素(0.1% DMSO as a co 溶剂)，在 37 C 中 5 分钟。用 1ml PBS 洗两次细胞，在成像前加 1ml HBSS。荧光素和 DsRed- express2 荧光图像在 FITC 通道(473 nm)和 DsRed 通道(激发 559 nm)中获得。得到的 16 位图像进行了分析。
-------------	--

#### 使用方法举例（仅供参考）

##### 1.准备 2-10 mM DMSO 储备溶液

将 4.2mg 溶于 1ml DMSO 中以制备 10mM 储备溶液 (1mg / ml 相当于~2.4mM)

注意：应立即使用原液；应将任何剩余的溶液等分并在  $< -20^{\circ}\text{C}$  冷冻。避免反复冻融循环，避免光照。

##### 2.准备染料工作溶液

在使用之前，通过用 Hanks 和 20mM Hepes 缓冲液 (HHBS) 或您选择的缓冲液 (pH7) 稀释步骤 1 中的 DMSO 储备溶液，准备 1 至 20 $\mu\text{M}$  染料工作溶液。通过涡旋混合均匀。

##### 3.用流式细胞仪或荧光显微镜分析细胞：

3.1 用测试化合物细胞培养一段所需的时间。

3.2 离心细胞，每管 2-10 $\times 10^5$  个细胞。

3.3 在 500 $\mu\text{L}$  染料工作溶液中重悬细胞 (来自步骤 2)。

3.4 在室温或 37 $^{\circ}\text{C}$  下用染料溶液孵育细胞 15 至 30 分钟，避光。

3.5 从细胞中取出染料工作溶液，用 HHBS 或您选择的缓冲液清洗细胞。将细胞重悬于 500 $\mu\text{L}$  预热的 HHBS 或培养基中，得到每管 2-10 $\times 10^5$  个细胞。

3.6 用流式细胞仪 (FL1 通道) 或荧光显微镜观察 Ex / Em = 490 / 520nm 处的荧光变化。

注意：对于细菌细胞染色：当通过测试细菌过夜生长预处理的营养肉汤中 1 : 800 稀释储备溶液时，染色是最有效的，但也可以使用新鲜营养肉汤或 PBS。细菌悬浮液应用 PBS 稀释至每毫升 10<sup>5</sup>-10<sup>7</sup> 个生物。可以通过将 1ml 溶液施加到 45 $\mu\text{m}$  过滤器 (25mm) 并真空过滤除去溶液，然后加入 1ml 染料溶液并在室温下孵育 5-10 分钟来染色细菌。

**【注意】**

- 我司产品为非无菌包装，若用于细胞培养，请提前做好预处理，除去热原细菌，否则会导致染菌。
- 部分产品我司仅能提供部分信息，我司不保证所提供信息的权威性，以上数据仅供参考交流研究之用。

**活性化合物操作注意事项**

**1 产品分装：**您收到货物后最好不要自己进行分包，因为分包环境、包装材料等因素可能导致分包后的产品变质；如您有特殊包装要求，请在订购时候与我们客服代表阐明，当然价格会做适当调整。对于开盖后，长期未使用的，请务必重新密封好，建议 Parafilm 封口膜，并按照相应储存条件使用。如果放置时间过长，超过产品有效期，建议您重新购买，以免影响实验质量。

**2 储备液制备：**大部分试剂的溶液形式稳定性较差，请优先采用现用现配的方式。如需制备储存液，请选用合适溶剂，细胞培养类多选择 DMSO，储备液制备完成后请于零下 80 摄氏度储存，一般可以稳定存在 3-6 个月以上。在使用前，再对储备液进行稀释。避免储备液反复冻融。

**3 细胞培养工作液制备：**请根据个人需要正确计算浓度，稀释储备液或者直接用粉末配置工作液。由于大部分化合物是脂溶性的，所以使用水性溶剂（如 PBS）稀释时，可能会析出沉淀，可通过超声使固体重新溶解，不会对实验产生影响。如用 DMSO 作为溶剂，请确保 DMSO 最终使用浓度 < 0.3%，以避免细胞毒性。

灭菌方式，我们建议通过 0.22UM 微膜过滤方式除菌，请勿采用紫外，射线或者高温灭菌方式，否则会影响化合物活性，甚至破坏其结构导致彻底失活。

**4 体内动物实验应用：**由于很多化合物是脂溶性的，动物实验工作液配制失活，可能会需要加入一些药用辅料作为助溶剂，如吐温，CMC-NA，甘油等，具体需要客户查阅相关文献决定。如使用 DMSO，请确保 DMSO 的终浓度 < 5%，以避免毒性作用。给药剂量设计时候，可以参考下表

动物体表面积等效剂量换算表

物种	体重(KG)	体表面积(M2)	Km 系数
狒狒	12	0.6	20
狗	10	0.5	20
猴	3	0.24	12
兔	1.8	0.15	12
豚鼠	0.4	0.05	8
大鼠	0.15	0.025	6
仓鼠	0.08	0.02	5
小鼠	0.02	0.007	3

动物 A(mg/kg)=动物 B(mg/kg) X 动物 B 的 Km 系数/动物 A 的 Km 系数

**5 关于产品到货处理及验收**

您收到产品后，请及时查验产品的包装完整性，并对数量进行确认。对于很多微量的产品，数量低于 500MG 的，我们出厂前都是保证正确数量包装的。由于产品包装可能在运输过程中倒置，从而导致产品附着在管壁或者盖子上，这时候请不要先打开盖子，需正位放置轻轻拍打，使产品沉降到官底。对于液体产品，可以在 200 转左右稍作离心，官底收集液体，从而避免损失。

产品标签标示重量会有一定成了误差，在下面范围内均属于我司正常范围，望周知

标示重量范围	误差范围
1-20MG	0.1MG
50-500MG	1MG
>1G	3-5MG

为什么会看起来包装瓶是空的，如果您购买的产品的量非常小，同时有些产品在冻干的过程中粘附在管壁上形成薄薄的一层，可能观察不到产品的存在。您可以加入指定溶剂（参照操作手册）并涡旋或超声震荡使之完全溶解。

对于蜡状或油状的产品很难取出称量它们的质量，我们建议您用合适的溶剂直接溶解该化合物；对于具有吸湿性的化合物，暴露在空气中会吸收水分，呈现液滴状，这种产品需要放置在干燥器中保存。