

产品说明书

产品名称: NM4-64 (AM4-64)

产品货号: BN14072

产品规格: 1 mg

应用范围: 神经荧光染料

产品参数

外观: 可溶于甲醇的紫色固体

Abs/Em (in MeOH): 543/- nm, (emission in MeOH is too weak to measure)

Abs/Em (in membranes) :510/750 nm

贮存条件: -20°C 避光保存

保质期: 12 个月

分子式: $C_{29}H_{45}N_4Cl_3$

分子量: 555.5

产品介绍

神经末梢探针是一系列阳离子型苯乙烯基荧光染料, 用于跟踪神经肌肉连接或突触的突触活动。这类染料通常具有亲脂性尾部(两个碳链)和带阳离子的高亲水性头部。神经末梢染料被命名为 NerveRed 或 NerveGreen 后接一个碳数, 表示亲脂性尾巴的长度。NM 染料具有相似的结构, 此外, 它们在带正电的头部具有醛固定胺。

阳离子苯乙烯基染料是通过活性依赖性染色突触小泡来发挥功能。染料与细胞或组织共孵育时, 染料的水相部分没有荧光, 而染料的亲脂性尾部插入细胞膜并呈现强荧光。神经刺激后, 在进行胞吞作用时, 染料被包裹在囊泡内, 因此, 洗去细胞表面附着的染料后, 荧光信号强弱表示新形成的囊泡的数量的多少。反之, 在胞吐作用时, 染料与神经递质一起从囊泡释放, 导致荧光信号减少。因此, 荧光强度的变化反映了胞吞/胞吐或突触活动的情况。内吞过程中荧光增加的速率——“结合速率”和胞吐过程中荧光减少的速率

——“解离速率”因染料种类而异。通常, 具有较长亲脂性尾部和更多双键的染料对膜具有较高的亲和力, 因此具有较高的结合速率和较低的解离速率。

NM4-64 染料能用于固定细胞染色。

实验操作

以下是在盖玻片上对培养的神经元细胞的神经末梢染色, 然后进行固定和免疫染色的方案。

神经末梢染料也可用于标记非神经元细胞类型的内吞囊泡。染色可以在 4°C 进行以选择性标记质膜; 在室温或 37°C 下, 染料的内吞通常在 10 min 内发生。可以使用 Tyrode 溶液或其它缓冲液, 可选择性添加钠离子通道阻断剂河豚毒素 (TTX), 其目的是阻断动作电位并防止染色后的突触囊泡释放。用于特定实验的最佳方案需要由实验者摸索。

1. 在 50 mM Tyrode 溶液中稀释神经末梢染料至最终浓度为 4 μ M。在室温下将含有细胞的盖玻片置于该溶液中 1 min, 使细胞完全浸没。
2. 将盖玻片转移至 Tyrode + 0.5 μ M 河豚毒素 (TTX) 溶液中, 室温下孵育 1 min。
3. 室温下, 用 Tyrode + 0.5 μ M TTX 溶液反复多次洗涤盖玻片。
4. 固定。将盖玻片用 4%多聚甲醛, 室温固定 20min。
5. 将盖玻片直接转移至预冷的含 0.01%Triton X-100 的 PSB 中, 4°C放置 10min。
6. 预冷的 PBS 洗三次, 每次 1min。
7. 在含有一抗的 10%的血清/PBS 中, 4°C染色 3h。抗体

浓度应该为常规免疫荧光染色的两倍。

8. 预冷的 PBS 洗三次，每次 1min。
9. 在含有二抗的 2%的血清/PBS 中，4℃ 染色 40min。抗体浓度与常规免疫荧光染色的相同即可。
10. 预冷的 PBS 洗三次，每次 1min。
11. 荧光显微镜下拍照观察。

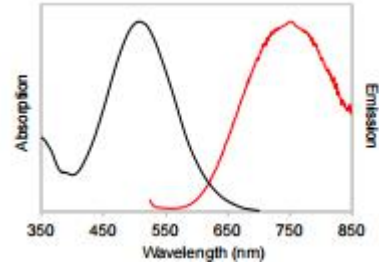


图. NM4-64 在脂质体中的吸收和发射光谱。