

Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

产品信息:

产品名称: Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

订购信息:

目录号	产品名称	规格	售价
X12116	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 μ g	¥ 470.00
X13099	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	5x50 μ g	¥ 1,875.00
X13100	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	10x50 μ g	¥ 3,000.00

产品说明:

CAS 号	273221-67-3
分子式	C ₅₁ H ₅₀ F ₂ N ₂ O ₂₃
分子量	1096.94g/mol
最大激发/发射波长	494/516 nm
纯度	≥90%
外观	橙红色粉末
保存	-20°C避光干燥保存, 有效期至少 1 年
运输	冰袋运输

使用说明:

产品描述:

细胞生物学实验中常使用 Fluo-3, AM 作为一种荧光探针来检测细胞内钙离子浓度变化。其检测原理基于 Fluo-3,AM 可穿透细胞膜进入细胞, 之后被细胞内的酯酶剪切形成 Fluo-3, 从而被滞留在细胞内。Fluo-3 游离配体几乎是非荧光性的, 其荧光不会随钙离子浓度升高而增强。但是, 当它与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光, 荧光会增加 60 至 80 倍。

Fluo-4, AM 是钙指示剂 Fluo-3,AM 的升级版, 主要变化为后者分子上的两个氯原子被 Fluo-4,AM 上的氟所取代, 该结构上的微小变化使 Fluo-4,AM 加载更快, 在相同浓度下检测信号更强。本产品为 Fluo-4,AM 粉末状, 用于细胞内钙离子检测时, Fluo-4, AM 的常用浓度为 0.5-5 μ M。

操作说明:

一. 需要试剂准备:

1. (可选) 配制 Pluronic F-127 母液: 100mg Pluronic F-127 粉末 (Cat No. 60318ES60) 中加入 0.5 mL DMSO, 配制成 20%(w/v) 的 DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50°C 加热 20-30 min。溶液室温保存, 不要冷藏。如果有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。
2. Hanks•balanced salt solution

二、操作步骤:

1) Fluo-4,AM 母液的配制: 向 Fluo-4, AM 中加入适量 DMSO, 配制成 1-5 mM 的储存液, DMSO 的加入量根据 Fluo-4,AM (MW1096.94) 分子量进行计算 (如: 若配制成 1mM 的母液, 需向 50 ug Fluo-4,AM 中加入 45.6 uL DMSO)。

【注】: 溶解用的 DMSO 需要保证新鲜无水, 否则将会导致 AM 体水解, 使荧光染料无法进入细胞, 影响实验效果。

2) Fluo-4,AM 工作液的配制: 利用 HBSS 将 Fluo-4,AM 稀释成 1-5 μ M 的工作液, 具体稀释方法如 1 mM 母液配制 1 mL 浓度为 4 μ M 工作液, 用 1 mL HBSS 溶液稀释 4 μ L 1 mM 母液即可。

【注】: ①推荐该探针加载浓度在 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。

② Fluo-4,AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

3) (可选) 如果 Fluo-4 进入细胞的效果不好, 可向 Fluo-4, AM/DMSO 溶液中加入适量 20% Pluronic F127 溶液, 最终稀释至其终浓度为 0.04-0.05%, Pluronic F127 可以防止 Fluo-4, AM 在 HBSS 中聚合并能帮助其进入细胞。

【注】: Pluronic F127 可降低 Fluo-4,AM 的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议将其加入储存液长期保存。

4) 取出预培养的细胞, 除去培养基, 使用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次。

【注】: 如果使用含血清的培养基, 血清中的酯酶会分解 AM 体, 从而降低 Fluo 4-AM 进入细胞的效果。另外含有酚红的培养基会使本底值略微偏高, 所以加工作液之前需尽量去除培养基残留。

5) 将 Fluo-4, AM 工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。在 37°C 培养 10-60 min, 然后除去 Fluo 4-AM 工作液。

【注】: 关于孵育的时间, 如果首次做实验不能确定, 建议先孵育 30 分钟, 看荧光效果: 如果细胞死亡较多, 适当缩短时间; 如果荧光强度太弱, 适当延长时间。

6) 用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次, 以充分去除残留的 Fluo 4-AM 工作液。然后加入 HBSS 溶液覆盖细胞。

7) 37°C 培养箱孵育约 20-30 分钟, 以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。

8) 用激光共聚焦或荧光显微镜检测细胞, 激发波长 494 nm, 发射波长 516 nm。

注意事项:

为了您的安全和健康, 请穿实验服并带一次性手套操作。

本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。