

Ready-to-use Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2 mM)

1 产品基本信息

产品名称 (中文): Ready-to-use Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2 mM)

产品名称 (英文): Ready-to-use Fluo-3 AM Calcium Probe (2 mM)

产品货号: MX1436

2 规格或纯度

50 μ L

3 产品介绍

产品简介

Fluo-3 是一种广泛使用的长波长荧光钙指示剂。该指示剂的吸收波长为 506 nm, 因此能被 488 氩离子激光有效激发。在没有 Ca^{2+} 存在的情况下, Fluo-3 基本上没有荧光, 但当与 Ca^{2+} 结合时, 526 nm 波长处的荧光至少会增加 40 倍。与 Fura-2 和 Indo-1 不同, Fluo-3 的激发和发射最大值在与 Ca^{2+} 结合前后都没有明显变化。因此, Ca^{2+} 的比率测量技术不适用于 Fluo-3, 此外, 由于 Fluo-3 与 Ca^{2+} 的结合力比 Fura-2 和 Indo-1 弱, 它更适用于测 Ca^{2+} 尖峰时的高瞬 Ca^{2+} 浓度。

Fluo-3 AM 酯是 Fluo-3 的一种膜渗透形式, 可通过孵育载入细胞。然而, 一旦进入细胞, 它就会被细胞质酯酶水解为 Fluo-3 游离酸。

产品特点

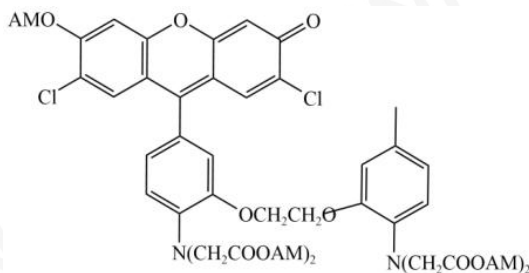
- 荧光亮度强: 发光时间久, 不易淬灭;
- 选择灵活方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

适用范围

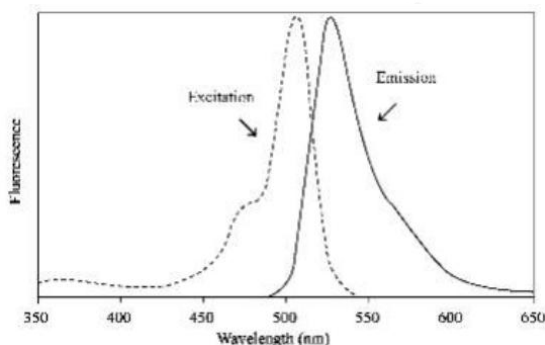
检测细胞内钙离子浓度

产品参数

- 外观: 可溶于 DMSO 的橙红色固体
- Ex/Em: 506/526 nm (结合 Ca^{2+} 后)
- CAS 号: 121714-22-5
- 分子式: $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$
- 分子量: 1129.9
- 分子结构图:



- 光谱图:



4 储存与运输

储存条件: -20℃避光保存

运输条件: 冰袋运输

5 使用方法 (仅供参考)

- (1) 将溶液形式的 Ready-to-use Fluo-3 AM Calcium Probe (2 mM) 储液取出于室温回温。
- (2) 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液稀释 Ready-to-use Fluo-3 AM Calcium Probe (2 mM) 储液, 制备 4 μ M 的 Fluo-3, AM ester 工作液。
注: 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使用最低探针浓度。
- (3) (可选) 如果进入细胞的效果不好, 可向工作液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液, 防止其在缓冲液中聚集并促进 Fluo-3 AM ester 进入细胞, Pluronic F-127 终浓度控制在 0.04~0.05%。
注: ①20% (w/v) 的 Pluronic F-127 DMSO 母液配制: 100 mg Pluronic F-127 中加入 0.5 mL DMSO, 配制成 20% (w/v) 的 DMSO 母液。溶解需要在 40~50℃加热 20~30 min。溶解后室温保存, 勿冷藏。如果有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。
②Pluronic F-127 可降低染料的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议将其加入储液中。
- (4) 取出预培养的细胞, 除去培养基, 使用 PBS 或 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次。
- (5) 去除缓冲液, 将工作液加入细胞中, 37℃培养 10~60 min。
注: 如果首次实验不能确定孵育温度和时间, 建议尝试 37℃孵育 20 min, 观察荧光效果。若细胞死亡较多, 则适当缩短时间或降低温度; 如果荧光强度太弱, 则适当延长时间。
- (6) 去除工作液, 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液洗涤细胞 3 次, 然后用 PBS 或 HBSS 等缓冲液重悬细胞, 制成 1×10^5 cells/mL 的细胞悬液。
- (7) 37℃培养 10 min, 确保 AM ester 在细胞内的完全去酯化作用。
- (8) 进行荧光钙离子检测。

注: 钙浓度与荧光的关系式为: $[Ca^{2+}] = K_d \frac{(F - F_{min})}{(F_{max} - F)}$, 其中 F 是实验钙浓度下指示剂的荧光, F_{min} 是无钙时的荧光, F_{max} 是饱和钙浓度下指示剂的荧光。据报道, Fluo-3 在无细胞介质中的 K_d 为 325 nM, 但 K_d 会受细胞中 pH 值、蛋白质浓度、离子强度、温度和粘度等因素影响, 准确测量细胞内钙浓度需校准 K_d , 详细信息可参阅参考文献。

6 注意事项

- 如果使用含有血清的培养基, 血清中的酯酶会分解 AM ester 体, 从而降低进入细胞的效果。另外, 含有酚红的培养基会使本底值略微偏高, 加工作液前应尽量去除残留培养基。
- 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。
- 本产品容易吸潮, 从冰箱取出后, 请确认在干燥的环境放至室温后开封。由于试剂极微量, 开封前请将其短暂离心, 以保证粉末落入管底。
- 产品遇水极易分解, 如果不能一次用完, 建议将储液少量分装保存。
- 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。