

Ready-to-use Fluo-4 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-4 AM 钙离子荧光探针 (2 mM)

产品名称 (英文): Ready-to-use Fluo-4 AM Calcium Probe (2 mM)

产品货号: MX1435

2 规格或纯度

50 μ L

3 产品介绍

产品简介

Fluo-4 是一种将 Fluo-3 结构中的氯离子替换成氟离子的钙荧光探针。由于将氯离子替换成了电子吸引力更强的氟离子, 它的最大激发波长会向短波长方向偏离 10 nm 左右, 这个波长更接近于氩激光器的波长, 所以用氩激光器激发时, Fluo-4 的荧光强度比 Fluo-3 更强。

Fluo-4 AM 穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成 Fluo-4, 从而被滞留在细胞内。Fluo-4 以游离配体形式存在时几乎是而非荧光性的, 但是与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光。可以使用激光共聚焦显微镜或流式细胞仪检测细胞内钙离子浓度的变化。

产品特点

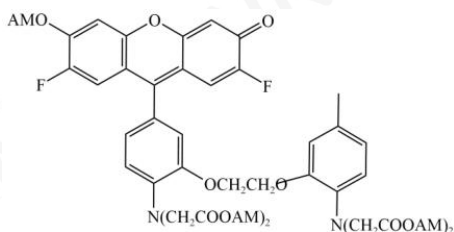
- 荧光亮度强: 发光时间久, 不易淬灭;
- 选择方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

适用范围

细胞内钙离子浓度检测

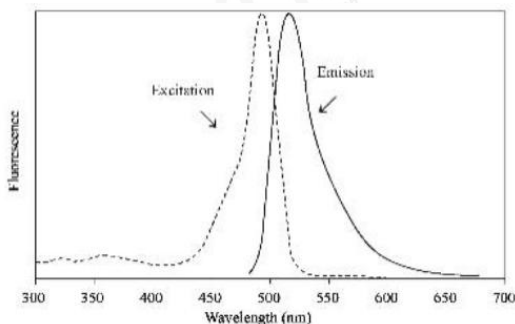
产品参数

- 外观: 可溶于 DMSO 的橙红色粉末
- Ex/Em: 494/516 nm (结合 Ca^{2+} 后)
- CAS 号: 273221-67-3
- 分子式: $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$
- 分子量: 1097.0
- 分子结构图:



AM=CH₂OCOCH₃

- 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 Ready-to-use Fluo-4 AM Calcium Probe (2 mM) 储液取出于室温回温。

(2) 用 PBS 或 HBSS 稀释 Ready-to-use Fluo-4 AM Calcium Probe (2 mM) 储液, 制备 4 μ M 的工作液。

注: 推荐工作液浓度为 4~20 μ M。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, 可从 4 μ M 开始摸索。

(3) (可选) 如果 Ready-to-use Fluo-4 AM Calcium Probe (2 mM) 进入细胞的效果不好, 可向溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液, Pluronic F-127 终浓度控制在 0.04~0.05%。

注: (1) 20% (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。

(2) Pluronic F-127 可降低产品的稳定性, 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, 在 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 体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-4 在无细胞介质中的 K_d 为 345 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。
- 本产品易吸潮, 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。
- Fluo-4 AM 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。