

HB210521

Fluo-3, AM, Cell Permeant 细胞膜可渗透钙离子荧光探针

产品信息

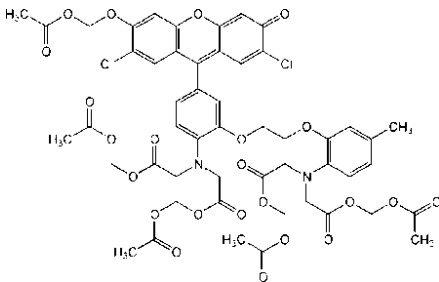
产品名称	产品编号	规格
Fluo-3, AM (Powder), Cell Permeant 细胞膜可渗透钙离子荧光探针	40703ES50	50 µg
	40703ES72	5×50 µg
	40703ES80	1 mg

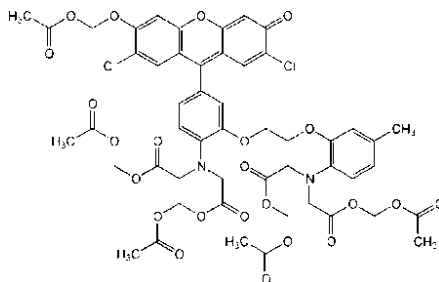
产品描述

Fluo-3, AM 是一种常用的检测细胞内钙离子浓度的荧光探针。它穿透细胞膜进入细胞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, 最大激发波长为 506 nm, 最大发射波长为 526 nm。实际检测时推荐使用的激发波长为 488 nm 左右, 发射波长为 525~530 nm。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。

本产品以粉末形式提供, 使用时可用高质量无水 DMSO 配制成 2-5 mM 的储存液分装保存。

产品性质

中文名称 (Chinese Synonym)	钙荧光探针 Fluo-3, AM
CAS 号 (CAS NO.)	121714-22-5
分子式 (Molecular Formula)	C ₅₁ H ₅₀ Cl ₂ N ₂ O ₂₃
分子量 (Molecular Weight)	1129.85
Ex/Em (nm, Ca ²⁺ -bound)	506/526
纯度 (Purity)	≥90% (HPLC)
外观 (Appearance)	红色粉末
结构式 (Structure)	



运输与保存方法

室温运输。粉末-20℃干燥避光保存, 有效期一年。

注意事项

- 1) 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。
- 2) 乙酰氧基甲基酯 (Acetoxymethyl ester, AM) 容易吸潮, 从冰箱取出后, 请确认在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂极其微量, 开封前请将其短暂离心, 以保证粉末落入管底。
- 3) 第一次使用时, 建议母液现配现用。且溶解后的试剂尽可能在短时间内使用, 以保证实验效果。
- 4) 母液遇水极易分解, 若单次不能用完, 建议分装保存, 例如 5 µL/管, 用封口膜封口, 并严格做到 ≤-20℃ 密封干燥保存。
- 5) 建议您在正式实验前先摸索一下细胞量、钙离子荧光探针的终浓度、培养时间等, 找到最佳实验条件。
- 6) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

试剂准备

1) **配制 Pluronic F-127 母液:** 100 mg 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**

操作方法

1) Fluo-3,AM 储存液的配制

利用高质量无水 DMSO 溶解 Fluo-3,AM 配制成 2-5 mM 的储存液, 该储存液可分装于 -20°C 避光干燥密封保存。每次使用前需回温至室温。

【注】: ① 因为 Fluo-3,AM 在水中的溶解性和稳定性较差, 不可用水溶性缓冲液配制 Fluo-3,AM 储存液。

② 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-3,AM 工作液的配制:** 利用 HBSS 将 Fluo-3,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-3,AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。

3) **(可选)** 如果 Fluo-3 进入细胞的效果不好, 可向 Fluo-3,AM/DMSO 溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液, 最终稀释至其终浓度为 0.02-0.05%, Pluronic F-127 可以防止 Fluo-3,AM 在 HBSS 中聚合并能帮助其进入细胞。

【注】: Pluronic F-127 可降低 Fluo-3,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 基团, 从而降低 Fluo 3-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-3,AM 工作液加入细胞, 加入量以覆盖细胞为准。在 37°C 培养 15-60 min, 然后除去 Fluo-3,AM 工作液。

【注】: ① 关于孵育的时间, 如果首次做实验不能确定, 建议先孵育 30 min, 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。

② 降低加载温度可能会减少探针 AM 酯运载技术造成的探针区室化。

6) 用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次, 以充分去除残留的 Fluo 3-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 min, 以确保 AM 基团在细胞内的完全去酯化作用。

【注】: (可选) 对于含有阴离子通道蛋白的细胞, 5-7 步骤中可加入有机阴离子转运抑制剂 probenecid (1-2.5 mM) 或 sulfipyrazone (0.1-0.25 mM) 到细胞外液以减少指示剂去酯后的渗漏。

8) 激光共聚焦显微镜或流式细胞仪等进行检测。激发波长 506 nm, 发射波长 526 nm。

【注】: 标记的条件因细胞种类而异, 每次实验前, 请先确定最佳条件。**以上方法仅供参考。**