

产 品 说 明 书

Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针, 2mM)

产品货号: F3014

产品规格: 50 μ L

产品参数

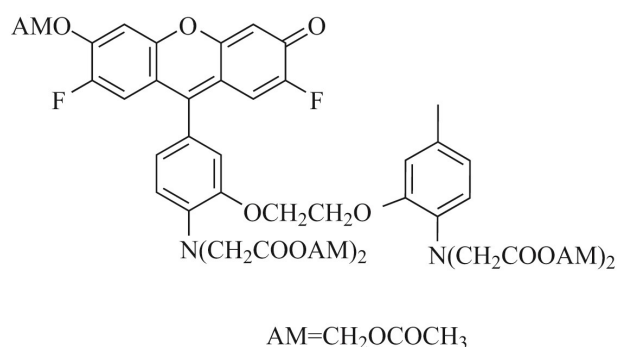
Ex/Em: 494/516 nm (结合 Ca^{2+} 后)

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:



储存条件

-20°C干燥避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

Fluo-4是一种将Fluo-3结构中的Cl离子替换成F离子的钙荧光探针。由于将Cl离子替换成了电子吸引力更强的F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 ester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。

使用方法

1. 将Fluo-4, AM ester储液取出于室温回温。
2. 用PBS或HBSS稀释Fluo-4, AM ester储液, 制备4 μ M的Fluo-4, AM ester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Fluo-4, AM ester进入细胞的效果不好, 可向Fluo-4, AM ester溶液中加入适量20 % Pluronic F-127溶液, 防止Fluo-4, AM ester在缓冲液中聚集并促进Fluo-4, AM ester进入细胞, 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°C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Fluo-4, AM ester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Fluo-4, AM ester工作液加入细胞中, 在37°C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°C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Fluo-4, AM ester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°C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。

注意事项

1. 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Fluo-4, AM ester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。

2. 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。

3. Fluo-4, AM ester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。

4. Fluo-4, AM ester 遇水极易分解, 如果不能一次用完, 建议将储液小量分装保存。

