

产品名称: Fluo-3 AM (钙离子荧光探针)

产品货号: RA20034

基本信息

中文名称	Fluo-3 AM (钙离子荧光探针)
英文名称	Fluo-3 AM
产品规格	1mg
存储条件	-20°C, 避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	506 /526nm

产品介绍

Fluo-3, AM ester 是一种可以穿透细胞膜的荧光染料。Fluo-3, AM ester 进入细胞后可以被细胞内源性酯酶剪切形成 Fluo-3, 从而被滞留在细胞内。Fluo-3 可以和钙离子结合, 结合钙离子后可以产生较强的荧光。

实验步骤

1. 无水 DMSO 溶解 Fluo-3, AM ester, 配制成 2-5 mM 的储液。

2. 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液稀释 Fluo-3, AM ester 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 Fluo-3, AM ester 进入细胞的效果不好, 可向 Fluo-3, AM ester 溶液中加入适量 20 % Pluronic F-127 溶液, 防止 Fluo-3, AM ester 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: (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-3, 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-3, AM ester 工作液加入细胞中, 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-3, 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 ester 在细胞内的完全去酯化作用。

产品名称: Fluo-3 AM (钙离子荧光探针)

产品货号: RA20034

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-3, 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-3, 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-3, 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。

备注: 该试剂仅供科研使用!