

产品说明书

Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针)

产品货号: F3013S

产品规格: 50 µg

产品参数

外观: 可溶于DMSO的橙红色粉末

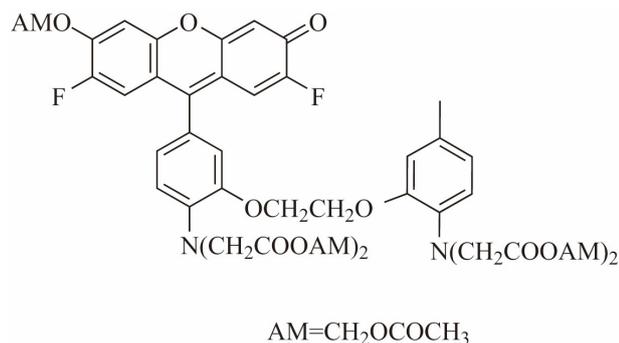
Ex/Em: 494/516 nm (结合Ca²⁺后)

CAS号: 273221-67-3

分子式: C₅₁H₅₀F₂N₂O₂₃

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. 用无水DMSO溶解Fluo-4, AM ester, 配制成2 mM的储液 (将1 mg Fluo-4, AM ester溶于456 µL无水DMSO中)。
2. 用PBS或HBSS稀释Fluo-4, AM ester储液, 制备4 µM的Fluo-4, AM ester工作液。

注: 推荐工作液浓度为4-20 µM。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 µM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。
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。

