

钙离子探针 Fluo-3AM 说明书

货号: IF0150

保存: Powder:-20℃,2 years;Insolvent(母液):-20℃,6 months;-80℃,1 year (protect from light)

产品简介

钙离子探针 Fluo-3, AM 是最常用的检测细胞内钙离子浓度的荧光探针之一。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 若以游离配体形式存在时几乎是非荧光性的, 但是当它与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光, 最大激发波长为 506nm, 最大发射波长为 526nm。实际检测时推荐使用的激发波长为 488nm 左右, 发射波长为 525~530nm。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。

产品参数

Ex/Em: 506/526nm

CAS : 121714-22-5

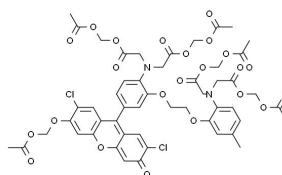
分子式: $C_{51}H_{50}Cl_2N_2O_{23}$

分子量: 1129.85

纯度: HPLC $\geq$ 93%

外观: Orange Solid

溶解性: Soluble in DMSO



使用说明 (仅供参考)

自备试剂 (可选)

1. Hanks balanced salt solution (HBSS): 建议使用不含钙镁、不含酚红的 HBSS (Cat No: H1045)
2. HEPES buffer saline: 10mM HEPES, 1mM Na₂HPO₄, 137mM NaCl, 5mM KCl, 1mM CaCl₂, 0.5mM MgCl₂, 5mM Glucose, 0.1% BSA, pH 7.4 (Cat No: H1070)
3. 20% Pluronic F127 储备液: 100mg Pluronic F127 粉末溶于 0.5mL DMSO。 (Cat No: P6791)

注: a. 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。

b. 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, 不建议将其加入储液中。

制备储存液

用 DMSO 配制 1-5 mM 的储备液。如: 1 mg Fluo-3, AM 粉末溶于 0.8851 mL DMSO 中, 得到 1mM 的 Fluo-3, AM 储备液。

注: a. 未使用的储存液建议分装储存在 -20℃, 避免反复冻融。

b. 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响, 请使用新开封的 DMSO。

工作液的配制

用合适的缓冲液（如：HBSS 等）稀释储液，配制成 1-5 μM 的 Fluo-3,AM 工作液。

注：a. 工作液最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系来优化。

b. 发现较难溶解时可以适当超声处理以促进溶解。

c. 请根据实际情况调整工作液浓度，且现用现配。

染色

***标记的条件因细胞种类而异，在每次实验前，请先确定最佳条件。**

1. 取出预培养细胞，去除培养基，用 HBSS 洗涤细胞三次。
2. 去除缓冲液，将 Fluo-3,AM 工作液加入细胞，溶液量以覆盖细胞为准。在 37°C 培养 10-60 分钟。
3. 去除 Fluo-3, AM 工作液，用 HEPES buffer saline 溶液洗涤细胞三次。
4. 加入含 1%胎牛血清的 HBSS 溶液，使其覆盖细胞，37°C 细胞培养箱孵育约 20-30 min，确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。
5. 用激光共聚焦或荧光显微镜检测细胞，激发波长 480-500 nm，发射波长 525-530 nm。如需荧光酶标仪或流式检测需用 HEPES buffer saline 使细胞重悬浮，制成 1×10^5 cells/mL 的溶液。

注意事项

1. 关于细胞孵育时间，建议先孵育 30 min，看荧光效果。如果细胞死亡较多，应缩短时间；如果荧光强度太弱，适当延长时间。
2. 如果使用含有血清的培养基，血清中的脂酶会分解 AM 体，从而降低 Fluo-3,AM 进入细胞的效果。
3. 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，应该尽量去除培养基残留。
4. Pluronic F127 可以防止 Fluo-3,AM 在 HBSS 中聚合并能够帮助其进入细胞。故，可以向 Fluo-3,AM 溶液中加入适量的 Pluronic F127 溶液，不建议在 Pluronic F127 中长期保存 Fluo-3,AM 溶液。
5. 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。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
7. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

使用本产品发表的文献

[1]. Wang T, Liu Y, Zhou Y, Liu Q, Zhang Q, Sun M, Sun M, Li H, Xu A, Liu Y. Astaxanthin protected against the adverse effects induced by diesel exhaust particulate matter via improving membrane stability and anti-oxidative property. J Hazard Mater. 2023 Aug 15;456:131684. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.131684. Epub 2023 May 22. Erratum in: J Hazard Mater. 2023 Oct 5;459:132092. doi: 10.1016/j.jhazmat.2023.132092. PMID: 37236114. (IF: 13.6)

注：更多文献请登录 Solarbio 官网查询。