

钙荧光探针 Fluo 3, AM

货号: F53720

规格: 100ug/1mg

保存: -20°C干燥避光保存, 有效期一年。

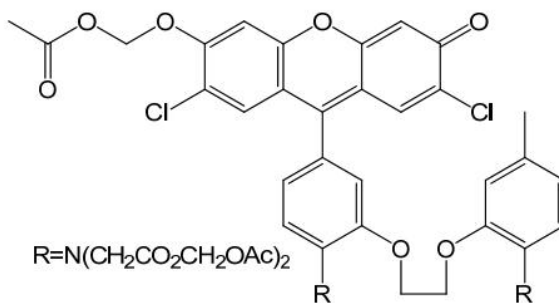
产品说明:

CAS: 121714-22-5

中文名: 钙荧光探针Fluo-3, AM

英文名: 1-[2-Amino-5-(2,7-dichloro-6-hydroxy-3-oxo-9-xanthonyl)phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, pentaacetoxyethyl ester

结构式:



分子式: C₅₁H₅₀C₁₂N₂O₂₃

分子量: 1129.85

性质:

1. 外观: 可溶于DMSO的橙红色粉末
2. 产品描述:

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。

操作说明:

一、试剂准备

- 1、配置Pluronic F127母液: : 100mg Pluronic F127中加入0.5ml DMSO, 配置成20% (w/v) 的DMSO母液。溶解过程需要在40-50°C加热20-30min。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 (HBSS, 不含Ca²⁺, Mg²⁺)
- 3、HEPES buffer saline (10mM HEPES, 1mM Na₂HPO₄, 137mM NaCl, 5mM KCl, 1mM CaCl₂, 0.5mM MgCl₂, 5mM Glucose, 0.1% BSA, pH 7.4)

二、操作步骤

- 1、用无水DMSO溶解Fluo-3,AM配置成2-5mM的储存液, 或将溶液形式的Fluo-3,AM储存液取出置于室温回温。
- 2、向Fluo-3,AM/DMSO溶液中加入等体积的20%的Pluronic F127溶液, Pluronic F127可以防止Fluo-3,AM在HBSS中聚合并能够帮助其进入细胞。

注意：不建议在Pluronic F127中长期保存Fluo-3,AM溶液。

3、用HBSS 稀释Fluo-3, AM 溶液，制备4 μ M 的Fluo-3, AM 工作液。

注意：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。

4、将Fluo-3, AM 工作液加入细胞，在37 $^{\circ}$ C培养20分钟。

5、加入5 倍体积的含有1%胎牛血清的HBSS，再继续培养40分钟。

6、用HEPES buffer saline洗涤细胞 3 次，然后用HEPES buffer saline使细胞重悬浮，制成 1×10^5 cells/mL 的溶液。

7、37 $^{\circ}$ C下培养10分钟，然后用该细胞进行荧光钙离子检测。激发波长506nm，发射波长526nm 。

注意：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。以上方法仅供参考。

注意事项：

1、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。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，应该尽量去除培养基残留。

2、荧光染料均存在淬灭问题，请注意避光，以减缓荧光淬灭。