

产品说明书

产品名称: Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针)

产品货号: BN13005-1 mg、BN13015-50 μ L

产品规格: 1 mg、50 μ L (2 mM)

产品参数

外观: 可溶于DMSO的橙红色固体 (F3005)

贮存条件: -20°C 避光保存

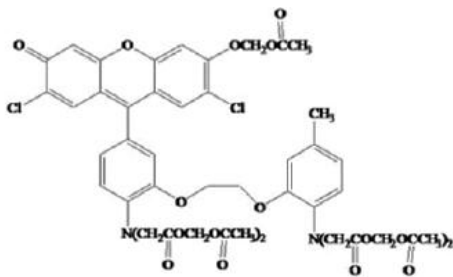
保质期: 12个月

CAS号: 121714-22-5

分子式: $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$

分子量: 1129.9

分子结构图:



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, 最大激发波长为506 nm, 最大发射波长为526 nm。

实验步骤

1. 用无水DMSO溶解 Fluo-3, AM配制成2 - 5 mM的储存液, 或将溶液形式的Fluo-3, AM储存液取出于室温回温。
2. 用PBS或HBSS等缓冲液稀释Fluo-3, AM 溶液, 制备4 μ M的Fluo-3, AM 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尽量使用最低探针浓度。

3. (可选) 如果Fluo-3进入细胞的效果不好, 可向Fluo-3, AM/DMSO 溶液中加入适量20% Pluronic F127溶液, 防止Fluo-3, AM在缓冲液中聚合并促进其进入细胞, Pluronic F127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。溶解过程需要在40 - 50 $^{\circ}\text{C}$ 加热20 - 30 min。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) Pluronic F127可降低Fluo-3, AM的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议将其加入储存液长期保存。

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. 将Fluo-3, AM 工作液加入细胞, 在37 $^{\circ}\text{C}$ 培养10-60 min。

注: 如果首次实验不能确定孵育温度和时间, 建议先尝试37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育20分钟, 观察荧光效果。如果细胞死亡较多, 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 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的溶液。
7. 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养10 min, 以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。
8. 进行荧光钙离子检测 (激发波长506 nm, 发射波长526 nm)。

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，应尽量去除培养基残留。
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. 本Fluo-3, AM容易吸潮，从冰箱取出后，请确认在干燥的环境放至室温后再开封。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。