

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01177

产品介绍

Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 是一种广泛使用的长波长荧光钙指示剂。该指示剂的吸收波长为 506 nm, 因此能被 488 氩离子激光有效激发。在没有 Ca^{2+} 存在的情况下, Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 基本上没有荧光, 但当与 Ca^{2+} 结合时, 526 nm 波长处的荧光至少会增加 40 倍。与 Fura-2 和 Indo-1 不同, Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 的激发和发射最大值在与 Ca^{2+} 结合前后都没有明显变化。因此, Ca^{2+} 的比率测量技术不适用于 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色), 此外, 由于 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 与 Ca^{2+} 的结合力比 Fura-2 和 Indo-1 弱, 它更适用于测量 Ca^{2+} 尖峰时的高瞬 Ca^{2+} 浓度。

Fluo-3, AM 酯是 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 的一种膜渗透形式, 可通过孵育载入细胞。然而, 一旦进入细胞, 它就会被细胞质酯酶水解为 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 游离酸。

应用范围

检测细胞内钙离子浓度

储运条件

-20 °C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

荧光亮度强: 发光时间久, 不易淬灭;

选择灵活方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 的橙红色固体

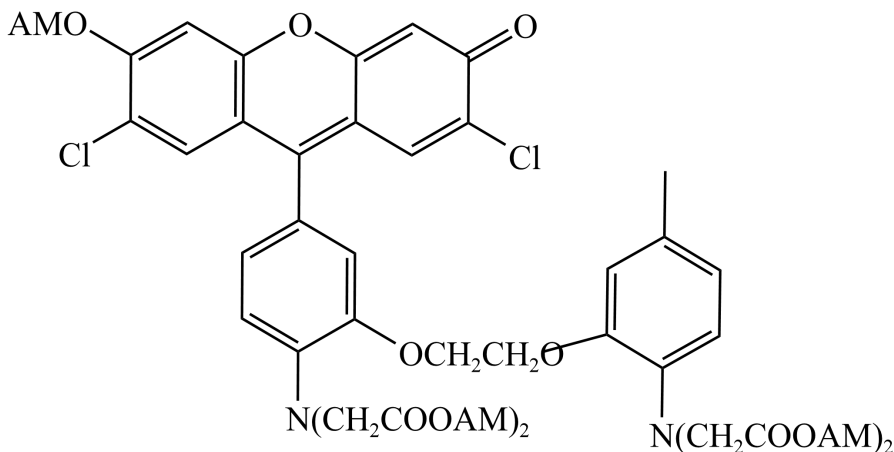
Ex/Em: 506/526 nm (结合 Ca^{2+} 后)

CAS 号: 121714-22-5

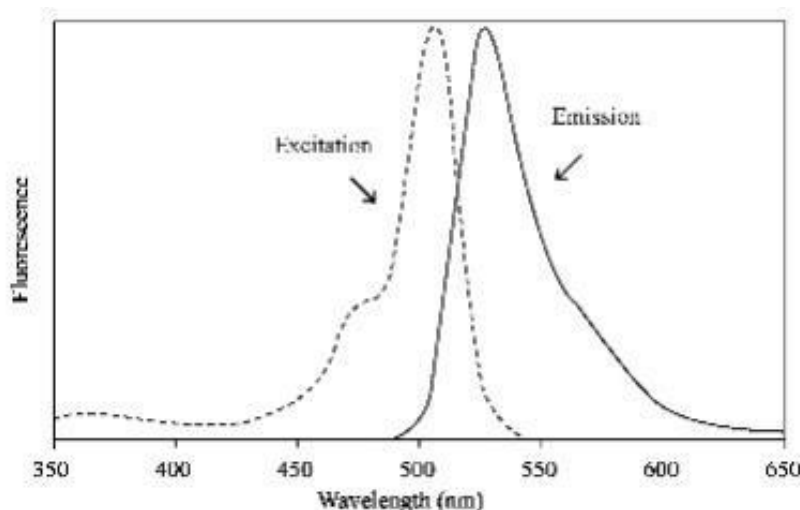
分子式: $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$

分子量: 1129.9

分子结构图:



光谱图:



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 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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。
5. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作方法

1. 将溶液形式的 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 储液取出于室温回温。
2. 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液稀释 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 储液, 制备 4 μ M 的 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 进入细胞的效果不好, 可向 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液, 防止 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 在缓冲液中聚集并促进 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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。

Pluronic F-127 可降低 Fluo-3 AM 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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 钙离子荧光探针 (2mM, 绿色) 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。

8. 进行荧光钙离子检测。

注：钙浓度与荧光的关系式为： $[Ca^{2+}] = K_d [(F - F_{min}) / (F_{max} - F)]$

其中，F 是实验钙浓度下指示剂的荧光，F_{min} 是无钙时的荧光。F_{max} 为饱和钙浓度下指示剂的荧光。

据报道，Fluo-3 AM 钙离子荧光探针（2mM，绿色） 在无细胞介质中的 K_d 为 325 nM。然而，K_d 通常会受到细胞中多种因素的影响，包括 pH 值、蛋白质浓度、离子强度、温度和粘度。因此，要准确测量细胞内的钙浓度，必须校准 K_d。详细信息，请参阅参考文献。