

产 品 说 明 书

Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针, 2mM)

产品货号: BN13015

产品规格: 50 μ L

产品参数

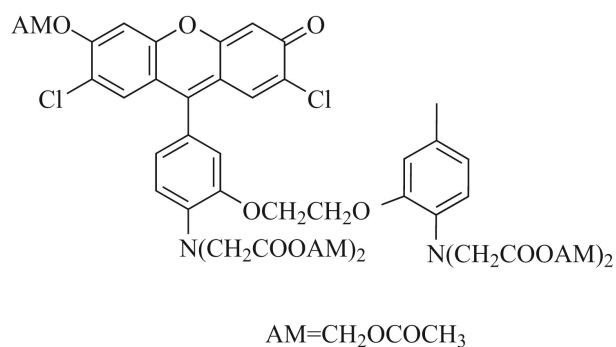
Ex/Em: 506/526 nm (结合 Ca^{2+} 后)

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:



储存条件

-20°C干燥避光保存, 有效期见外包装。

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。

使用方法

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

3. Fluo-3, 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-3, 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。