

## 钙荧光探针Fluo-4, AM

货号: PMK0933

保存: -20°C干燥避光, 有效期12个月。

规格: 100 μg

用途: 可用于荧光和共聚焦显微镜、流式细胞分析以及微孔板筛应用。

### 产品简介:

钙荧光探针Fluo-4, AM, 橙红色粉末; 纯度:  $\geq 90\%$  (HPLC)

钙指示剂是结合  $\text{Ca}^{2+}$  后显示荧光增强的分子。Fluo-3 应用在流式细胞分析上, 如涉及笼状螯合剂光活化、第二信使和神经递质的实验以及基于细胞的药理学筛选, 用于  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导的空间动力学成像。Fluo-4 是 fluo-3 的类似物, 其中两个氯取代基被氟取代, 导致在 488 nm 波长处的荧光激发增强, 因此荧光信号水平更高。将溶解后的指示剂直接加入含有培养细胞的培养皿中, 即可向细胞加载 AM 酯形式的这类钙离子指示剂。这些指示剂可用于荧光和共聚焦显微镜、流式细胞分析以及微孔板筛选应用。

Fluo-4是一种将Fluo-3结构中的Cl替换成F的钙荧光探针。由于将Cl替换成了电子吸引力更强的F, 它的最大激发波长会向短波长处偏离10 nm左右。这个波长更接近于氩激光器的波长, 所以用氩激光器激发时, Fluo-4的荧光强度比Fluo-3强一倍。Fluo-4, AM穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成Fluo-4, 从而被滞留在细胞内, Fluo-4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494nm, 最大发射波长为516nm。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。

### 操作步骤:

#### 1. (1) 试剂

2 mM的Fluo-4, AM/DMSO (将1mg Fluo-4, AM溶于442μL DMSO)

Pluronic F127; Hanks balanced salt solution (HBSS)

HEPES buffer saline (10mM HEPES, 1mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 137mM NaCl, 5mM KCl, 1mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.5mM  $\text{MgCl}_2$ , 5mM glucose, 0.1% BSA, pH 7.4)

#### (2) 操作

- ①. 向Fluo-4, AM/DMSO溶液中加入16.5mg Pluronic F127, Pluronic F127可以防止Fluo-4, AM在HBSS中聚合并能帮助其进入细胞。
- ②. 用HBSS稀释Fluo-4, AM溶液, 制备4μM的Fluo-4, AM工作液。
- ③. 将Fluo-4, AM工作液加入细胞, 在37°C培养20分钟。
- ④. 加入5倍体积的含有1%胎牛血清的HBSS, 再继续培养40分钟。
- ⑤. 用HEPES buffer saline洗涤细胞3次, 然后用HEPES buffer saline使细胞重悬浮, 制成 $1 \times 10^5$  cells/mL的溶液。
- ⑥. 37°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494nm, 发射波长516nm。

\*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。

### 相关产品:

## 产品说明书

PMK1300 考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液

PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated

PMK0312 抗体稀释液

PMK1700 PBST缓冲液

PMK1020 IPTG 溶液 (50mg/ml)

PMK1010 30%丙烯酰胺 (29:1)

PMK1070 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

PMK0012 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒



更多产品详情了解，请关注公众号：