

钙荧光探针Fluo-3, AM

货号: PMK0935

保存: -20°C干燥避光, 有效期12个月。

规格: 1 mg

用途: 穿透细胞膜的荧光染料。

产品简介:

Fluo-2 最早是由 Roger Tsien 博士发明的钙离子指示剂 Fluo 系列之一, 目前, Fluo-3 和Fluo-4 已成熟商品化。然而, Fluo-2 在细胞内比 Fluo-4 要更明亮, 主要可能是由于大部分细胞对 Fluo-2 的加载能力要高于 Fluo-4。

Fluo-3 成像涉及到钙离子信号通路的多个方面, Fluo-3 经常应用在流式细胞术上, 如螯合剂光活化、第二信使、神经递质以及细胞水平的药理筛选。Fluo-3 在这些应用里之所以能大量运用主要是由于其几个重要特性: Fluo-3 可被氩离子激光器 488nm 激发, 并在与 Ca²⁺结合后, 发射荧光很明亮的荧光信号。

Fluo-3 AM 是一种可以穿透细胞膜的荧光染料。Fluo-3 AM 的荧光非常弱, 其荧光不会随钙离子浓度升高而增强。Fluo-3 AM 进入细胞后可以被细胞内的酯酶剪切形成 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 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。

操作步骤:

加载细胞说明

加载细胞, 建议使用膜透性的 AM 酯类形式的探针, 如下操作建议仅供参考。

1. 取适量 Fluo-3 AM 母液, 用 PBS 稀释至 $1\sim 5\mu\text{M}$ 的工作液浓度, 加入非离子型去污剂 Pluronic F-127 可以协助非极性的 AM 酯在水溶液中的扩散, 确保 Pluronic F-127 在加载到细胞中的工作浓度是 0.02% (1:1000 稀释原液)。注: 工作液须即用即配, 请勿反复冻融。
2. 对于待检测的培养细胞, 去除培养液, 用 PBS 或 HBSS 洗三遍。注: 因为培养液中的血清含有酯酶会导致 Fluo-3 AM 分解为 Fluo-3, 而酚红会导致荧光背景增强。
3. 加入 Fluo-3 AM 工作液, 溶液量以能充分覆盖细胞为准。
4. 20°C-37°C 孵育 10-60 分钟进行荧光探针装载。注: 如果是首次实验不能确定孵育温度和时间, 建议先尝试 37°C 孵育 30 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, 则适当延长长时间。
5. 随后用 PBS 或 HBSS 洗涤 3 次, 洗涤后可以考虑适当再孵育 20-30 分钟以确保 Fluo-3 AM 在细胞内完全转变成 Fluo-3。
6. 如有需要, 可以使用适当药物来刺激细胞。
7. 用激光共聚焦显微镜、荧光酶标仪、荧光分光光度计或流式细胞仪等荧光检测仪器检测 Fluo-3 的荧光, 以确定细胞内钙离子浓度的变化。

注: 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。

产品说明书

注意事项:

- 1、本 Fluo-3 AM 在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内，可以 20-25℃ 水浴温育片刻至全部融解后使用。
- 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、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

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：