

Fluo-4,AM钙离子浓度检测试剂盒

产品货号: BA1974

产品规格: 200T

产品介绍:

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10nm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。

产品组成:

名称	规格	保存条件
5mM Fluo-4, AM	20 μ L	-20 $^{\circ}$ C, 避光
20% Pluronic F127	20 μ L	室温, 避光
HBSS	75mL \times 2	2-8 $^{\circ}$ C
HEPES buffer saline	100mL	2-8 $^{\circ}$ C

操作步骤: (仅供参考)

1. 向Fluo-4,AM/DMSO溶液中加入等体积的20%的Pluronic F127溶液, Pluronic F127可以防止Fluo-4,AM在HBSS中聚合并能够帮助其进入细胞。

注意: 不建议在Pluronic F127中长期保存Fluo-4,AM溶液。Pluronic F127的量可以适当调整。Pluronic F127和Fluo-4,AM一定要确保完全溶解后才可使用。

2. 用HBSS稀释Fluo-4, AM溶液, 制备4-5 μ M的Fluo-4, AM工作液。

注意: 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. 将Fluo-4, AM工作液加入细胞, 在37 $^{\circ}$ 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 1×10^5 cells/mL的溶液。

6. 37 $^{\circ}$ 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506nm, 发射波长526nm。

*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。

注意事项:

1. 如果使用含有血清的培养基, 血清中的脂酶会分解AM体, 从而降低Fluo-4, 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, 应该尽量去除培养基残留。

2. 荧光染料均存在淬灭问题, 请注意避光, 以减缓荧光淬灭。

3. Fluo-4,AM/DMSO溶液低温状态下会凝固, 需完全融化后使用, 可以水浴加热使其溶解, 不影响实验结果。

有效期: 12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com