Fluo-4 AM(钙离子荧光探针)

产品编号：MA0196　　规格：25μL

产品内容

产品组成	MA0196
Fluo-4 AM(钙离子荧光探针)	25μL
说明书	1 份

产品简介

Fluo-4 AM 是最常用的检测细胞内钙离子浓度的荧光探针之一。Fluo-4 AM 将 Fluo-3 AM 结构中的氯原子替换成了氟原子，导致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 488nm，所以用氩激光器激发时，Fluo-4 的荧光强度会比 Fluo-3 强一倍。由于 Fluo-4 与钙离子的亲和力和 Fluo-3 相近，所以使用上和 Fluo-3 基本相同，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。

Fluo-4 AM 是 Fluo-4 的乙酰甲酯衍生物，能够穿透细胞膜进入细胞中。Fluo-4 AM 进入细胞后可以被细胞内的酯酶剪切形成 Fluo-4，从而被滞留在细胞内。Fluo-4 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 494nm，最大发射波长为 516nm。

本 Fluo-4 AM（钙离子荧光探针）是配制于无水 DMSO（anhydrous DMSO）中的储存母液，浓度为 2mM。

用于细胞内钙离子检测时，Fluo-4 AM 的常用浓度为 0.5-5μM。通常用含有 0.5-5μM 的 Fluo-4 AM 的适当溶液和细胞一起在 20-37℃孵育 10-60 分钟进行荧光探针装载，随后适当洗涤，洗涤后可以考虑适当再孵育 20-30 分钟以确保 Fluo-4 AM 在细胞内充分转变成 Fluo-4。

使用方法（for Human T Cells）*

1. （可选步骤）向本产品中加入 20.6mg 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 0.5-5μM 的 Fluo-4 AM 工作液。

3. 将 Fluo-4 AM 工作液加入细胞，在 37℃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-BSA 缓冲液（美仑货号：MA1302）（10mM HEPES，1mM Na_2HPO_4，137mM NaCl，5mM KCl，1mM $CaCl_2$，0.5mM $MgCl_2$，5mM glucose，0.1% BSA，pH 7.4）洗涤细胞 3 次，然后用 HEPES-BSA 缓冲液使细胞重新悬浮，制成 1×10^5cells/mL 的溶液。

6. 37℃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 494 nm，发射波长 516 nm。

【注】：为获得更好的染色效果，可选择 HEPES-BSA 缓冲液代替 HBSS 缓冲液。

*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。

保存条件

-20℃避光保存，6 个月有效。

注意事项

1. Fluo-4 AM 遇水极易分解，建议第一次使用时，母液分装并密封保存，同时注意保持干燥。

2. Fluo-4 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。

3. 探针的工作浓度、细胞量、孵育温度和时间等需要根据不同实验预先摸索。

4. 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。

5. 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，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。

大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用