

Fluo-4, AM

货号: F8501

规格: 20uL

保存条件: -20℃避光保存, 有效期一年。

产品组成:

中文名: 钙荧光探针 Fluo-4, AM

CAS#: 273221-67-3

分子式: $C_{51}H_{50}F_2N_2O_{23}$ =1096.94

产品简介:

分子式: $C_{51}H_{50}F_2N_2O_{23}$

分子量: 1096.94

外观: 橙红色粉末

纯度: $\geq 90\%$ (HPLC)

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。

使用说明:

for Human T cells

(1) 5mM 的 Fluo-4, AM/DMSO

配置 Pluronic F127 母液: 100mg Pluronic F127 中加入 0.5ml DMSO, 配置成 20%(w/v)的 DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50℃加热 20-30min。溶液室温保存, 不要冷藏。如果有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。

Hanks•balanced salt solution(HBSS 不含钙镁)

HEPES buffer saline(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)

(2) 操作

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-3,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。

②. 用 HBSS 稀释 Fluo-4, AM 溶液, 制备 4 μ M 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 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°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。