

Fluo-4, AM, Cell Permeant

Cat# CF0812

产品概述

钙的测量是许多生物学研究的关键。Fluo-3 和 Fluo-4 是最常用的可见光可激发钙指示剂。荧光探针在结合 Ca^{2+} 时显示光谱响应，这使研究人员能够通过荧光显微镜、流式细胞术、荧光光谱和荧光微孔板读取器来研究细胞内游离 Ca^{2+} 浓度的变化。Fluo-4 是 Fluo-3 的类似物，其两个氯取代基被氟取代。这种较小的结构修改导致在 490 nm 处荧光激发增加，因此在共聚焦显微镜、流式细胞术和微孔板筛选应用中获得了更高的信号水平。

表 1 Fluo-4, AM 的光谱特性

产品编号	产品名称	分子量 (MW)	Ex (nm)	Em (nm)
CF0812	Fluo-4, AM, Cell Permeant	1096.95	494	516

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Fluo-4, AM, Cell Permeant	CF0812-50μG	50 μg

储存方式

-25 ~ -15°C；干燥避光存储。

使用说明

本方案仅供参考，具体实验方案需根据细胞类型、状态及其他条件进行优化。

制备 Fluo-4 AM 原液

1. 将试剂放至室温后再开封。建议使用前进行短暂离心，以确保试剂在试剂管底部。

【注】：乙酰氧基甲基酯 (Acetoxymethyl Ester, AM) 容易吸潮，请放置于干燥环境中存储。

2. 使用高质量无水 DMSO 溶解 Fluo-4 AM，制备 2-5 mM 的 Fluo-4 AM 原液。

【注】：1. 不可用水溶性缓冲液配制 Fluo-4, AM 储存液，因为 Fluo-4, AM 在水中的溶解性和稳定性较差。

2. 应使用新鲜无水的 DMSO 溶解 Fluo-4 AM，否则可能会导致 AM 水解，使荧光染料无法进入细胞，影响实验效果。

3. 原液可分装保存，于 -25°C ~ -15°C 避光干燥密封保存，避免反复冻融。

制备 Fluo-4 AM 工作液

1. 用 HBSS 缓冲液稀释 Fluo-4 AM 原液，制备浓度为 2-20 μM 的 Fluo-4 AM 工作溶液。对于大多数细胞系，建议使用终浓度为 4-5 μM 的 Fluo-4 AM。细胞染色所需指示剂的确切浓度请根据经验确定。

【注】：1. 非离子洗涤剂 Pluronic F-127 用于增加 Fluo-4 AM 的水溶性，可降低 Fluo-4 AM 的稳定性。若 Fluo-4 AM 进入细胞效果不理想，建议加入 Pluronic F-127，使其终浓度为 0.02-0.05%。但只建议在配制工作液时加入，不建议将其加入储存液长期保存。

2. 尽可能降低探针使用浓度，可避免探针造成的细胞毒性。

3. Fluo-4, AM 工作液需现配现用，避免反复冻存。

细胞染色与检测

1. 在培养基中培养细胞过夜。
2. 使用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次，去除培养基。
3. 将 1X Fluo-4 AM 工作液添加到细胞板上。
4. 在细胞培养箱中 37°C 孵育染料板 15-60 min，然后去除残留的染料工作液。

【注】：关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30 min，查看荧光效果：如果细胞死亡较多，需适当缩短时间；如果荧光强度太弱，需适当延长时间。染料孵育超过 2 小时可以提高某些细胞系的信号强度。

5. 用合适的缓冲液（如：HBSS 缓冲液）洗涤细胞 3 次，以去除任何多余的染料工作液。
6. 用合适缓冲液重悬细胞，37°C 培养箱孵育约 20-30 min，以确保 AM 基团在细胞内的去酯化作用。

【注】：若待测细胞含有有机阴离子转运蛋白，可以在步骤 4-6 中染料工作溶液中加入有机阴离子转运蛋白抑制剂（如：终浓度为 0.5-2 mM Probenecid，丙磺舒），以减少脱酯化的染料泄漏。

7. 用激光共聚焦显微镜或流式细胞仪等检测荧光，激发波长在 490/525 nm 截止 515 nm 处。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

