

Indo-1, AM, Cell Permeant

Cat# CF0815

产品概述

Indo-1 是利用流式细胞仪进行钙离子比率测量的重要探针。在细胞内，Indo-1 探针结合 Ca^{2+} 后，最大发射波长从结合前的 475 nm 向 400 nm (Ca^{2+} 饱和时) 偏移，该信号变化可被流式细胞仪捕捉。在氩离子激光器的 351-364 光谱范围内单一波长激发该探针，在 400 nm 和 475 nm 的波长处分别检测结合钙离子和未结合钙离子的荧光信号，通过二者荧光强度的比率测定钙离子浓度。

比率测量显著降低了不均匀染料负载、染料泄漏和光漂白的影响，以及与测量不均匀厚度的细胞中 Ca^{2+} 相关的问题。通常可以在一小时内测量 Indo-1 荧光，不会因泄漏或漂白而造成荧光的明显损失。Indo-1 亮度足够高，可以在染料的胞内浓度下进行测量，这不太可能引起显著的 Ca^{2+} 缓冲或 Ca^{2+} 瞬变的抑制。

表 1 Indo-1, AM 的光谱特性

产品编号	产品名称	分子量 (MW)	Ex /Em(nm) Zero Ca^{2+} Conc.	Ex /Em (nm) High Ca^{2+} Conc.
CF0815	Indo-1, AM, Cell Permeant	1009.91	346 / 475	330 / 401

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Indo-1, AM, Cell Permeant	CF0815-50 μG	50 μg

储存方式

-25 ~ -15°C; 干燥避光存储。

实验步骤

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 Indo-1 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 Indo-1 AM，制备 2-5 mM 的 Indo-1 AM 原液。

【注】：1. 不可用水溶性缓冲液配制 Indo-1, AM 储存液，因为 Indo-1, 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 Indo-1 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 Indo-1 AM 工作液

1. 用 HBSS 缓冲液稀释 Indo-1 AM 原液，制备浓度为 2-20 μM 的 Indo-1 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 Indo-1 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 Indo-1, AM 的水溶性，可降低 Indo-1 AM 的稳定性。若 Indo-1, 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. Indo-1, 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 Indo-1 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. 用荧光显微镜或流式细胞仪等检测荧光，在 $Ex/Em_1 = 340/400\text{ nm}$ 无截止和 $Ex/Em_2 = 340/475\text{ nm}$ 截止 455nm 处测量荧光。

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.

