上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

Fluo-4 AM(钙离子荧光探针, 2mM)

产品编号	产品名称	包装
R32271-20ul	Fluo-4 AM(钙离子荧光探针, 2mM)	20 μl

产品简介：

钙指示剂是结合 Ca 2+后显示荧光增强的分子。Fluo-4 应用在流式细胞分析上，如涉及笼状螯合剂光活化、第二信使和神经递质的实验以及基于细胞的药理学筛选，用于 Ca 2+信号转导的空间动力学成像。Fluo-4 是 Fluo-4 的类似物，其中两个氯取代基被氟取代，导致在 488 nm 波长处的荧光激发增强，因此荧光信号水平更高。将溶解后的指示剂直接加入含有培养细胞的培养皿中，即可向细胞加载 AM 酯形式的这类钙离子指示剂。这些指示剂可用于荧光和共聚焦显微镜、流式细胞分析以及微孔板筛选应用。

Fluo-4 是一种将 Fluo-4 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-4 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。

保存条件：

-20℃避光保存六个月。

注意事项：

1、 本 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。

2、 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。

3、 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。

4、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法：

加载细胞说明

加载细胞，建议使用膜透性的 AM 酯类形式的探针，如下操作建议仅供参考。

1. 取适量 Fluo-4 AM 母液，用 PBS 稀释至 1~5 μM 的工作液浓度，加入非离子型去污剂 Pluronic F-127 可以协助非极性的 AM 酯在水溶液中的扩散，确保 Pluronic F-127 在加载到细胞中的工作浓度是 0.02%（1:1000 稀释原液）。

注：工作液须即用即配，请勿反复冻融。

2. 对于待检测的培养细胞，去除培养液，用 PBS 或 HBSS 洗三遍。

注：因为培养液中的血清含有酯酶会导致 Fluo-4 AM 分解为 Fluo-4，而酚红会导致荧光背景增强。

3. 加入 Fluo-4 AM 工作液，溶液量以能充分覆盖细胞为准。

4. 20℃-37℃孵育 10-60 分钟进行荧光探针装载。

注：如果是首次实验不能确定孵育温度和时间，建议先尝试 37℃孵育 30 分钟，观察荧光效果。如果细胞死亡较多，则适当缩短时间或降低温度；如果荧光强度太弱，则适当延长时间。

5. 随后用 PBS 或 HBSS 洗涤 3 次，洗涤后可以考虑适当再孵育 20-30 分钟以确保 Fluo-4 AM 在细胞内完全转变成 Fluo-4。

6. 如有需要，可以使用适当药物来刺激细胞。

7. 用激光共聚焦显微镜、荧光酶标仪、荧光分光光度计或流式细胞仪等荧光检测仪器检测 Fluo-4 的荧光，以确定细胞内钙离子浓度的变化。

注：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。