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-3,AM 钙离子浓度检测试剂盒

货号：R32270

规格：200T

保存温度：2-8℃保存，有效期 12 个月。

名称	规格	保存
5mM Fluo-3, AM	20μL	-20℃干燥避光
20% Pluronic F127	20μL	RT 干燥避光
HBSS	75 mL×2	4 ℃
HEPES buffer saline	100mL	4 ℃

产品说明：

Fluo-3, AM（MW: 1129.85）是最常用的检测细胞内钙离子浓度的荧光探针之一。它穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成 Fluo-3，从而被滞留在细胞内，Fluo-3 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 506nm，最大发射波长为 526nm。实际检测时推荐使用的激发波长为 488nm 左右，发射波长为 525～530nm。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。

操作说明（仅供参考）：

1. 向 Fluo-3,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-3,AM 溶液。Pluronic F127 的量可以适当调整。Pluronic F127 和 Fluo-3,AM 一定要确保完全溶解后才可使用。

2. 用 HBSS 稀释 Fluo-3, AM 溶液，制备 4-5μM 的 Fluo-3, AM 工作液。

注意：为了避免过度加载造成细胞毒性，建议在取得有效结果的基础上尽量使用最低探针浓度。

3. 将 Fluo-3, 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 1×105cells/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 506nm，发射波长 526nm。

*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。

注意事项：

1、 如果使用含有血清的培养基，血清中的脂酶会分解 AM 体，从而降低 Fluo-3, AM 进入细胞的效果。另外，含有酚红的培养基会使本底值略微偏高，所以加工作液之前，应该尽量去除培养基残留。

2、 荧光染料均存在萃灭问题，请注意避光，以减缓荧光萃灭。