

Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

产品信息:

产品名称: Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

产品规格:

目录号	产品名称	规格
X12117	Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50 μ g
X13095	Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	5x50 μ g
X13096	Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	10x50 μ g

产品说明:

分子式	C ₅₀ H ₅₀ N ₂ O ₂₃
分子量	1046.93g/mol
最大激发/发射波长	490/514 nm (Ca ²⁺ 结合)
溶解性	溶于 DMSO (1~5 mM)
保存	-20°C避光干燥保存
运输	冰袋运输

使用说明:

产品描述:

Fluo-8, 是目前最亮的可见光激发波长 Ca²⁺荧光探针,其荧光强度比 Fluo-4 强两倍, 比 Fluo-3 强四倍。Fluo-8 具中等程度的 Ca²⁺亲和力, 几乎接近 Fluo-3, Fluo-4 (Fluo-3: K_d=0.4 μ M. Fluo-4: K_d=0.36 μ M、Fluo-4: K_d= 0.389 μ M), 使用上几乎同 Fluo-3 和 Fluo-4。

Fluo-8 不仅维持 Fluo-3, Fluo-4 便捷的光谱检测特性, 与 Ca²⁺结合后的最大激发波长为 490nm, 最大发射波长为 514nm。而且具有改善的细胞载入和 Ca²⁺响应能力。Fluo-8 加载具较弱的温度依赖性, 在室温或 37°C 孵育皆染色良好, 不像 Fluo-3, Fluo-4 严格要求在 37°C 孵育, 此特征使其更适用于 HTS 高通量筛选实验。Fluo-8 应用广泛, 与许多细胞系和靶向样本兼容, 不会受配体或靶标本身信号干扰。Fluo-8 可通过激光共聚焦显微镜流式细胞仪、荧光酶标仪、荧光显微镜等来检测胞内钙离子水平的变化。

Fluo-8, AM 是 Fluo-8 的一种乙酰甲酯衍生物, 具有细胞膜渗透性, 只需简单培养, 即可轻易进入细胞。一旦进入细胞内, 即被其内酯酶剪切生成不具膜渗透性的 Fluo-8, 从而滞留在细胞内以发挥相应生理功能。本品以 50 μ g 小包装的冻干粉形式供货, 用于细胞内 Ca²⁺水平检测时, 常用浓度为 1-5 μ M。

操作说明:

一.使用钙指示剂 AM Esters 加载细胞:

AM 酯是非极性酯, 其易于穿过活细胞膜, 并且通过活细胞内的细胞酯酶快速水解。AM 酯广泛用于

非侵入性地将各种极性荧光探针装载到活细胞中。但是，使用 AM 酯时必须小心，因为它们易于水解，特别是在溶液中。它们应在使用前用高质量的无水二甲基亚砜 (DMSO) 重新配制。DMSO 储备溶液应在 -20°C 下干燥储存并避光。在这些条件下，AM 酯应稳定数月。

以下是我们推荐的将 AM 酯加载到活细胞中的方案。该方案仅提供指南，实际情况应根据您的具体需求进行修改。

- a) 在高质量无水 DMSO 中制备 2 至 5 mM AM 酯原液。
- b) 在实验当天，将钙指示剂溶解在 DMSO 中或将等份的指示剂储备溶液解冻至室温。使用 0.02% Pluronic®F-127 在您选择的缓冲液（如 Hanks 和 Hepes 缓冲液）中制备 1 至 10 μ M 的工作溶液。对于大多数细胞系，我们建议钙指示剂的最终浓度为 4-5 μ M。细胞加载所需指标的确切浓度必须根据经验确定。为避免因过载和潜在染料毒性引起的任何伪影，建议使用可产生足够信号强度的最小探针浓度。
注意：非离子洗涤剂 Pluronic®F-127 有时用于增加钙指示剂 AM 酯的水溶性。
- c) 如果您的细胞含有有机阴离子转运蛋白，可以在细胞培养基中加入丙磺舒（1-2.5 mM）或磺吡酮（0.1-0.25 mM），以减少脱酯化指标的泄漏。在室温或 37°C 下用钙指示剂酯孵育细胞 20 分钟至 1 小时。
- d) 在 HHBS 或您选择的缓冲液（含有阴离子转运蛋白抑制剂，如 2.5mM 丙磺舒，如果适用）中洗涤细胞 1-2 次以除去过量的探针。
- e) 在所需的 Ex / Em 波长下进行实验。

二.测量细胞内钙响应:

为了确定溶液的游离钙浓度或单波长钙指示剂的 Kd, 使用以下等式: $[Ca]_{free} = Kd[F - F_{min}] / F_{max} - F$

其中 F 是实验钙水平下指示剂的荧光，F_{min} 是不存在钙时的荧光，F_{max} 是钙饱和探针的荧光。解离常数 (Kd) 是探针对于钙的亲合力的量度。与校准溶液相比，荧光指示剂的 Ca²⁺ 结合和光谱性质在细胞环境中变化非常显著。细胞内指标的原位校准通常产生显著高于体外测定的 Kd 值。通过在离子载体如 A-23187, 4-溴 A-23187 和离子霉素存在下将加载的细胞暴露于受控的 Ca²⁺ 缓冲液来进行原位校准。或者，细胞透化剂如洋地黄皂苷或 X-100 可用于将指示剂暴露于细胞外培养基的受控 Ca²⁺ 水平。

注意事项:

为了您的安全和健康，请穿实验服并带一次性手套操作。

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。