

请在使用前仔细阅读说明书

Fluo 4-AM

货号 规格
F312 50 µg×8

保存: ≤-20℃, 密封、干燥和避光保存。

注意事项:

- 1、试剂容易吸潮, 从冰箱取出后, 请确认在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂极其微量, 开封前, 请轻弹管壁几次, 以保证粉末落入管底。
- 2、第一次使用时, 建议母液即配即用。试剂溶解后尽可能在短时间内使用, 以保证实验效果。
- 3、溶解液 DMSO 需要保证新鲜无水, 否则将会导致 AM 体水解, 使荧光染料无法进入细胞, 影响实验效果。
- 4、母液遇水极易分解, 如果不能一次用完, 建议分装保存, 例如分装成 5 µl/管, 用封口膜封口, 并用铝箔纸包裹, 放在一个密闭性能好的塑料袋中, 并放入一包干燥剂, 在 ≤-20℃ 密封避光保存。
- 5、建议您在正式实验前先摸索一下细胞量、钙离子荧光探针的终浓度、培养时间等, 找到最佳实验条件。

使用方法 (以 50 µg 为例):

母液配制: 用 45.6 µl 二甲基亚砜 (DMSO) 溶解 50 µg 的 Fluo 4-AM 粉末配制成 1 mmol/l 的 Fluo 4-AM 母液。-20℃ 避光密封保存。使用前根据实验需要稀释成合适的浓度。

- 如果想配其他浓度母液的话, 请按照如下公式进行操作:

$B=45.6/A$; 其中 A 为 Fluo 4-AM 的母液浓度 (mmol/l); B 为 DMSO 的体积 (µl)。

操作步骤 (仅供参考):

- 1、用 HBSS 溶液稀释 1-5 mmol/l 的 Fluo 4-AM 母液, 配制成 1-5 µmol/l 的 Fluo 4-AM 工作液。
(此浓度仅供参考, 请根据具体实验要求自行调整)
例如: 1 mmol/l 母液配制 1 ml 浓度为 5 µmol/l 工作液的方法: 用 1 ml HBSS 溶液稀释 5 µl 母液即可。
·Fluo 4-AM 工作液需要即配即用, 请勿反复冻存。
·如果 Fluo 4-AM 进入细胞的效果不好, 可使用 Pluronic® F-127, 后者可以防止 Fluo 4-AM 在缓冲液里聚合并能促进其进入细胞。
*Pluronic® F-127 先用 DMSO 溶解至浓度为 20% (W/V), 然后根据实验需要直接加入 Fluo 4-AM 工作液中至终浓度为 0.04-0.05% (此浓度仅供参考, 请根据具体实验要求自行调整)。
- 2、取出预培养的细胞, 除去培养基, 使用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次。
·如果使用含血清的培养基, 血清中的酯酶会分解 AM 体, 从而降低 Fluo 4-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, 所以加工作液之前需尽量去除培养基残留。
- 3、加入 Fluo 4-AM 工作液, 溶液量以覆盖细胞为准。
- 4、37℃ 细胞培养箱孵育 10-60 分钟, 除去 Fluo 4-AM 工作液。
·关于孵育的时间, 如果首次做实验不能确定, 建议先孵育 30 分钟, 看荧光效果: 如果细胞死亡较多, 适当缩短时间; 如果荧光强度太弱, 适当延长时间。
- 5、用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次, 以充分去除残留的 Fluo 4-AM 工作液。然后加入 HBSS 溶液覆盖细胞。
- 6、37℃ 培养箱孵育约 20-30 分钟, 以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。
·如果细胞内酯酶活性较低, 建议严格按照此操作进行; 酯酶活性高的细胞实验, 可以忽略此步。
- 7、用激光共聚焦或荧光显微镜检测细胞, 激发波长 494 nm, 发射波长 516 nm。

株式会社 日本同仁化学研究所 (Dojindo Laboratories)

如果您需要更多的信息或者有任何问题可以通过下列方式联系我们:

上海市零陵路 899 号飞洲国际广场 27 楼 J 座	北京市朝阳区德外马甸裕民路 12 号元辰鑫大厦 E1-210 室
邮编: 200030	邮编: 100029
电话: 800-988-0083	电话: 010-8225-1765
网址: http://www.dojindo.cn	E-mail: info@dojindo.cn