Fluo-8,AM 新型钙离子荧光探针检测试剂盒 C0012

描述：钙离子浓度变化是活细胞接受外界刺激后产生级联反应的重要信息传递方式，因此细胞内钙离子检测是信号转导 G 蛋白偶联受体（GPCR）介导的相关药物筛选、以及其他相关实验中非常重要的一种研究手段，该领域中常使用钙离子荧光探针与钙离子的特异性结合来观察细胞内钙离子浓度水平的变化。Fluo-8, AM **是目前灵敏度最高的可见光激发波长 Ca^{2+}**绿色**荧光探针。**Fluo-8, AM 是 Fluo-8 的一种乙酰甲酯衍生物，具有细胞膜渗透性，只需与细胞简单孵育培养，即可进入细胞内，生成不具膜渗透性的 Fluo-8，与细胞内游离 Ca^{2+}结合，其荧光强度显著增强，一般情况，细胞受到药物处理后，Ca^{2+}浓度通常增加 5 至 10 倍， 所显示光谱可被荧光显微镜、流式细胞仪、荧光分光镜、荧光酶标仪等多种仪器检测。

Fluo-8,AM, 新型钙离子荧光检测探针优势如下：

1、 Fluo-8 的吸收峰和发射峰分别为 490 nm 和 514 nm。可以用 488nm 的氩离子激光很好地激发，其荧光强度随 Ca^{2+}浓度而增加。

2、 对 Ca^{2+}变化水平检测敏感度更高，Fluo-8 与细胞内 Ca^{2+}结合后，荧光增强大于 200 倍，比常用的 Fluo-3 强四倍、比 Fluo-4 强两倍。

3、 Fluo-8,AM 具有较弱的温度依赖性，在室温或 37℃与细胞孵育均可；而 Fluo-3，Fluo-4 严格要求在 37℃孵育。

4、 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。

组成：

Fluo-8,AM 母液（250X）	45ul	-20℃ 避光保存
Pluronic F127 母液	45ul	4℃ 保存
稀释缓冲液	80ml	4℃ 保存

储存： 按要求保存，一年有效。

操作步骤：

1. Fluo-8,AM 工作液配制： 取 Fluo-8,AM 母液（250X）6ul 与等量 Pluronic F127 母液混匀，加入 1488ul 稀释液缓冲液，混匀后，即为 Fluo-8,AM 工作液。

2. 将细胞以 4×10^4 个细胞/100μl/孔接种于 96 孔黑色壁、透明底培养板中，培养过夜。

3. 吸弃培养液，加入 100ul Fluo-8,AM 工作液，以覆盖细胞为准，37℃或室温孵育 0.5～1 小时。

4. 用稀释缓冲液洗涤细胞两次，然后加 0.5ml 稀释缓冲液，使用 FITC 通道上机测量。

说明

1. 请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
2. Fluo-8,AM 母液和 Pluronic F-127 母液使用前，请短暂离心。保证液体落入管底。
3. Fluo-8,AM 母液若单次不能用完，建议分装保存。
4. Pluronic F-127 母液如果有结晶析出，可重新加热至 40-50℃溶解，不影响使用。
5. 加 Fluo-8,AM 工作液之前，需尽量去除培养基残留。
6. 如果使用培养基稀释 Fluo-8,AM 探针，应使用无血清、无酚红的培养基。
7. 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，

   以确定最佳实验条件。

8.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。