

## 产品组成：

产品编号	CA005-1	CA005-2
规格	50-100 T	100-200 T
细胞钙离子染色液	50 ul	50 ul*2
使用说明书	1	1

**储存条件：** -20℃避光保存。开盖后组份按要求条件保存染料长期不用可以-20℃保存。避免反复冻融。

染色液为 DMSO 溶液，冬季气温较低时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热融解，变成液体状态后离心至管底部再开盖。

可以用手捂住使其融解或 37℃短时间水浴。吸头也需要放在培养箱预热，否者容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。

**有效期：** 6 个月

## 产品简介：

钙离子检测试剂盒采用细胞内钙离子浓度荧光探针检测钙离子浓度水平的变化。

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。

F03 具有极高的细胞渗透性，经过简单孵育即可实现细胞加载。穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成不易透过细胞膜的 F03 新产物，从而被滞留在细胞内。F03 游离配体几乎是非荧光性的，其荧光不会随钙离子浓度升高而增强。但是，当它与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光，荧光会增加 60 至 100 倍，最大激发波长为 494nm，最大发射波长为 516nm。实际检测时推荐使用的激发波长为 488nm 左右，发射波长为 515~530nm。可以使用荧光显微镜、酶标仪、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。

F03 荧光探针采用可见光激发，与传统的紫外光激发的荧光探针相比，仪器的适用范围更广泛，具有更强的探针吸收性能，使得更低浓度的探针即可成功检测 Ca<sup>2+</sup>变化，从而降低了对活细胞的光毒性，检测敏感度更高。

## 检测方法：

流式细胞仪  
荧光显微镜  
激光共聚焦

## 样本类型：

● 悬浮细胞      ● 贴壁细胞

## 使用方法与注意事项：

- 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体收集至管底，避免开盖时液体洒落。
- 钙离子染色液为 DMSO 溶液，冬季气温较低时在室温时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热溶解，吸头也需要放在培养箱预热，否者容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。
- 探针为了便于观察防止误操作导致损失，在试剂盒中时是采用透明管包装，收到后可以离心移入干燥黑色避光密封管或者用铝箔包裹避光。
- 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。

5. 细胞处理需要小心操作, 尽量避免人为的损伤细胞。
6. 染色后立即进行分析。
7. F03 探针容易受潮, 稳定性较差, 注意干燥保存。从冰箱取出后, 请确认在干燥的环境放至室温后再开封。F03 探针母液时要用干燥的新吸头, 不能使用含水的吸头。F03 探针工作液含水, 配制后不可以长期保存, 须现配现用。
8. 标记的条件因细胞种类而异, 根据同样本的实际染色结果做相应调整, 在每次实验前, 请先确定最佳条件。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。以下方法仅供参考。

#### **染色工作液的配制：**

用 HBSS 稀释 F03 溶液 400 倍-4000 倍, 配制成 F03 染色工作液。

收集培养好的待测细胞样本, 用 HBSS 洗涤细胞 3 次。

离心去上清后, 将 F03 染色工作液加入细胞, 在 37℃ 孵育 20 -60 分钟。

用 HBSS 洗涤细胞 2-3 次。

用 HBSS 重悬细胞。在 37℃ 下再继续孵育 20-40 分钟。

然后用该细胞进行荧光钙离子检测。

激发波长 488-495nm, 发射波长 516nm。