



Fluo-4 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针

产品简介

Fluo-4 是可见光激发波长 Ca²⁺荧光探针 Fluo-3 的改良版本, 通过将 Fluo-3 结构上的氯离子 (Cl⁻) 替换为电子吸引力更强的氟离子 (F⁻), 使得最大激发波长往短波长偏移 10nm 左右。正由于这个波长更接近氩激光器的波长, 则当使用氩激光器来激发探针 Fluo-4, 能够得到更强的荧光强度, 比 Fluo-3 强一倍。另外, Fluo-4 的 Ca²⁺亲和力几乎接近 Fluo-3 (Fluo-3: K_d=0.4 μM、Fluo-4: K_d=0.36 μM), 因此, 使用上几乎同 Fluo-3。Ca²⁺结合后的最大激发波长为 494nm, 最大发射波长为 516nm。可通过激光共聚焦显微镜或流式细胞仪来检测胞内钙离子水平的变化。

Fluo-4, AM 是 Fluo-4 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-4, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。

本品以 50ug 小包装的冻干粉形式, 用于细胞内 Ca²⁺水平检测时, 推荐浓度 0.5-5uM。

产品组成

名称 编号	FS1221	FS1221	Storage
Fluo-4 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针	50ug	5*50ug	-20℃
使用说明书		1 份	

基本特性

CAS:273221-67-3

同义名: Fluo-4, AM, Acetoxymethyl Ester

分子式: C₅₁H₅₀F₂N₂O₂₃

分子量: 1096.95

纯度: ≥98% (HPLC)

溶解性: 溶于 DMSO (1-5 mM)

Ex/Em: 494/516nm (Ca²⁺结合);

储存条件: 置于-20℃干燥保存, 1 年效期。冰袋运输

使用方法

A 试剂准备

1) **配制 Pluronic F-127 母液:** 称取 100mg Pluronic F-127 粉末 (Cat No. FS0432) 中加入 500ul DMSO, 配制成 20%(W/V)母液。溶解过程需要在 40-50℃加热 20-30min。溶液室温保存, 不用冷藏。如有结晶析出, 可以重新加热溶解, 不影响使用。

2) **HHBS BUFFER**(1X Hank's Balanced Salt Solution with 20mM HEPES buffer, pH7.3)或者其他生理缓冲液

B 操作步骤

1) 用无水 DMSO 溶解 Fluo-4, AM 配制成 1-5mM 的储存液, 或将已配好的 Fluo-4, AM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 50ug Fluo-4, AM 中加入 11.9ul 无水 DMSO)。

2) 用 HHBS 或其他生理缓冲液 Fluo-4, AM+DMSO 储存液稀释到 1-10uM 的工作液, 提前加入适量的



20%Pluronic F-127 溶液，使其终浓度为 0.02%。

【注（1）】：Fluo-4,AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 4-5 μ M,具体的使用浓度需根据实验要求进行优化。为了避免过度加载造成细胞毒性，建议在取得结果的基础上尽量使用最低探针浓度。

【注（2）】：Fluo-4,AM 工作液需现配使用，避免反复冻存。

【注（3）】：Pluronic F-127 可以防止 Fluo-4,AM 在溶液中聚合并促使探针更好进入细胞。但 Pluronic F-127 可降低 Fluo-4,AM 的稳定性，因此只建议在配制工作液时加入，不建议加入储存液长期保存。

3) **【可选】** 如果细胞内含有有机阴离子转运体，丙磺舒（Probenecid,1-2.5mM）或者，磺吡酮（Sulfapyrazone,0.1-0.25mM）可能需要加入细胞培养基内，以降低去酯化探针的泄露。

【注（1）】：丙磺舒或磺吡酮储存液相当偏碱，因此加入培养基后需要重新调整 pH。

4) 将准备好的 Fluo-4,AM 工作液加入细胞，加入量以覆盖细胞为准。37 $^{\circ}$ C 或者室温孵育 20-60min。

【注（1）】：关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30min,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。

【注（2）】：降低探针加载温度可能会降低探针的区室化现象。

5) 吸掉染色工作液，并用 HHBS 或其他生理缓冲液（如有必要，使用含转运体抑制剂如 2.5mM 丙磺酸的缓冲液）替换，去除多余探针。

6) 用适当的仪器如激光共聚焦、流式细胞仪、荧光酶标仪等，用波长 Ex/Em=494/516nm 来进行检测。

【注（1）】：Fluo-4,AM 进入胞内后，经酯酶降解形成 Fluo-4，并不是以供价结合的形式滞留在细胞质内。因此不可对加载染料的活细胞进行固定处理，再进去 Ca²⁺水平检测。

注意事项

- 1) 荧光染料均匀在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 2) 乙酰氧基甲酯（AM）易吸潮，冰箱取出后请在干燥的环境放至室温后在开封。由于试剂微量，开封前请将其短暂离心，以保证粉末落入管底。
- 3) Fluo-4,AM 在 4 $^{\circ}$ C、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管底、或管壁或管盖内，可在 20-25 $^{\circ}$ C 温育片刻至全部溶解后使用。
- 4) Fluo-4,AM 第一次使用，建议储存液现配现用，分装成单次用量，严格做到 \leq -20 $^{\circ}$ C 密封干燥冻存，以防止受潮。为了保证良好的实验效果，尽量在短时间内使用。
- 5) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS1219	Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS1220	Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS1221	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS1222	Fluo-8 AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS1223	Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS1224	Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS1225	Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针，超级纯	50 μ g
FS0306	Dimethyl Sulfoxide (DMSO), 二甲基亚砷 DMSO (细胞培养级)	100ml
FS0432	Pluronic [®] F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级	1g