

Fluo-3 AM 钙离子荧光探针

1 产品基本信息

产品名称（中文）：Fluo-3 AM 钙离子荧光探针

产品名称（英文）：Fluo-3 AM Calcium Probe

产品编号：MX1426

2 规格或纯度

1 mg

3 产品介绍

产品简介：

Fluo-3 是一种广泛使用的长波长荧光钙指示剂。该指示剂的吸收波长为 506 nm，能被 488 nm 氩离子激光有效激发。在没有 Ca^{2+} 存在的情况下，Fluo-3 基本上没有荧光，与 Ca^{2+} 结合后，526 nm 波长处的荧光至少会增加 40 倍。

与 Fura-2 和 Indo-1 不同，Fluo-3 的激发和发射最大值在与 Ca^{2+} 结合前后无明显变化，因此 Ca^{2+} 的比率测量技术不适用于 Fluo-3。此外，由于 Fluo-3 与 Ca^{2+} 的结合力比 Fura-2 和 Indo-1 弱，更适用于测量 Ca^{2+} 尖峰时的高瞬态 Ca^{2+} 浓度。

Fluo-3, AM 酯是 Fluo-3 的膜渗透形式，可通过孵育载入细胞，进入细胞后会被细胞质酯酶水解为 Fluo-3 游离酸。

产品特点：

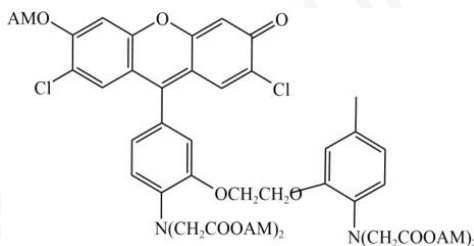
- 荧光亮度强：具有良好灵敏度，发光时间久，不易淬灭；
- 选择灵活方便：可搭配公司其它试剂使用，方便灵活。

适用范围：

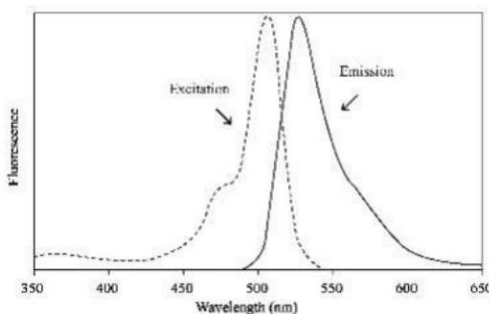
检测细胞内钙离子浓度

产品参数：

- 外观：可溶于 DMSO 的橙红色固体
- Ex/Em: 506/526 nm (结合 Ca^{2+} 后)
- CAS 号: 121714-22-5
- 分子式: $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$
- 分子量: 1129.9
- 分子结构图：



- 光谱图：



4 储存与运输

储存条件: -20℃避光保存

运输条件: 冰袋运输

5 使用方法 (仅供参考)

(1) 用无水 DMSO 溶解 Fluo-3, AM ester, 配制成 2~5 mM 的储液。

(2) 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液稀释储液, 制备 4 μM 的工作液。

注: 为避免过度加载造成细胞毒性, 建议在取得有效结果的基础上使用最低探针浓度。

(3) (可选) 若探针进入细胞效果不佳, 可向工作液中加入适量 20% Pluronic F-127 DMSO 母液, 终浓度控制在 0.04~0.05%, 防止探针聚集并促进其进入细胞。

注: ①20% (w/v) Pluronic F-127 DMSO 母液配制: 100 mg Pluronic F-127 中加入 0.5 mL DMSO, 40~50℃加热 20~30 min 溶解, 室温保存, 勿冷藏; 若有结晶析出, 可重新加热溶解, 不影响使用。② Pluronic F-127 会降低探针稳定性, 仅建议在配制工作液时加入, 不建议加入储液中。

(4) 取出预培养的细胞, 除去培养基, 用 PBS 或 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次。

(5) 去除缓冲液, 加入工作液, 37℃培养 10~60 min。

注: 首次实验若不确定孵育条件, 建议尝试 37℃孵育 20 min, 观察荧光效果; 若细胞死亡较多, 适当缩短时间或降低温度; 若荧光强度太弱, 适当延长长时间。

(6) 去除工作液, 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液洗涤细胞 3 次, 再用该缓冲液重悬细胞, 制成 1×10^5 cells/mL 的细胞悬液。

(7) 37℃培养 10 min, 确保 AM 酯在细胞内完全去酯化。

(8) 进行荧光钙离子检测。

注: 钙浓度与荧光的关系式为: $[Ca^{2+}] = K_d[(F - F_{min}) / (F_{max} - F)]$, 其中 F 是实验钙浓度下指示剂的荧光, F_{min} 是无钙时的荧光, F_{max} 是饱和钙浓度下指示剂的荧光。据报道, Fluo-3 在无细胞介质中的 K_d 为 325 nM, 但 K_d 会受细胞中 pH 值、蛋白质浓度、离子强度、温度和粘度等因素影响, 准确测量细胞内钙浓度需校准 K_d , 详细信息可参阅参考文献。

6 注意事项

- 若使用含有血清的培养基, 血清中的酯酶会分解 AM 酯体, 降低探针进入细胞的效果; 含有酚红的培养基会使本底值略微偏高, 加工作液前应尽量去除残留培养基。
- 荧光染料均存在淬灭问题, 需尽量避光, 以减缓荧光淬灭。
- 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。