

## Fluo-4 AM 钙离子荧光探针

### 1 产品基本信息

产品名称（中文）：Fluo-4 AM 钙离子荧光探针

产品名称（英文）：Fluo-4 AM Calcium Probe

产品货号：MX1434

### 2 规格或纯度

50 µg

### 3 产品介绍

产品简介：

Fluo-4 是一款对 Fluo-3 结构进行优化的钙荧光探针，具体是将 Fluo-3 中的氯离子替换为氟离子。这一改动使 Fluo-4 的最大激发波长向短波长方向偏移约 10nm，该波长与氩激光器的波长更为接近，因此在氩激光器激发下，Fluo-4 的荧光强度高于 Fluo-3。

Fluo-4 AM Calcium Probe 具备穿透细胞膜的能力，进入细胞后会被细胞内的酯酶剪切，形成 Fluo-4 并滞留在细胞内。游离状态的 Fluo-4 几乎不发荧光，而与细胞内钙离子结合后，能产生较强的荧光。基于这一特性，可借助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。

产品特点：

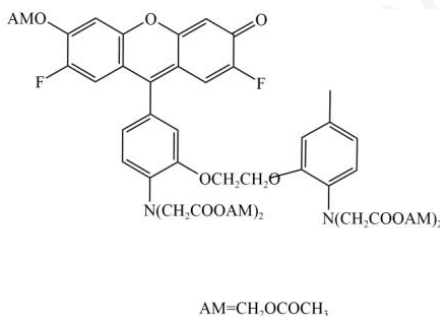
- 荧光亮度强：发光持续时间久，且不易发生淬灭。
- 选择方便：可与该公司其他试剂搭配使用，灵活便捷。

适用范围：

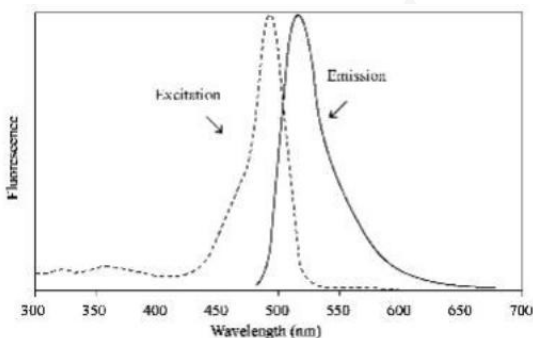
专门用于细胞内钙离子浓度检测。

产品参数：

- 外观：橙红色粉末，可溶于 DMSO
- Ex/Em: 494/516 nm（结合  $\text{Ca}^{2+}$  后）
- CAS 号：273221-67-3
- 分子式： $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$
- 分子量：1097.0
- 分子结构图：



- 光谱图：



## 4 储存与运输

储存条件: -20°C避光环境

运输条件: 冰袋运输

## 5 使用方法（仅供参考）

(1) 使用无水 DMSO 溶解 Fluo-4 AM Calcium Probe, 配制成 2 mM 的储液（具体为将 1 mg Fluo-4 AM Calcium Probe 溶于 456  $\mu$ L 无水 DMSO 中）。

(2) 用 PBS 或 HBSS 稀释 Fluo-4 AM Calcium Probe 储液, 制备 4  $\mu$ M 的工作液。

注: 推荐工作液浓度范围为 4-20  $\mu$ M, 为避免过度加载导致细胞毒性, 建议在获得有效结果的前提下使用最低探针浓度, 可从 4  $\mu$ M 开始摸索。

(3) （可选）: 若 Fluo-4 AM Calcium Probe 进入细胞的效果不佳, 可向其溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液（20% (w/v) 的 Pluronic F-127 DMSO, Pluronic F-127 终浓度需控制在 0.04-0.05%。

注: 母液配制方法: 在 100 mg Pluronic F-127 中加入 0.5 mL DMSO, 于 40-50°C加热 20-30 min 溶解, 溶解后室温保存, 勿冷藏。如果有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。Pluronic F-127 会降低 Fluo-4 AM Calcium Probe 的稳定性, 仅建议在配制工作液时加入, 不可加入储液中。

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

(5) 去除缓冲液后, 向细胞中加入 Fluo-4 AM Calcium Probe 工作液, 在 37°C条件下孵育 10-60 min。

注: 若首次实验不确定孵育温度和时间, 建议先尝试 37°C孵育 20 min, 观察荧光效果; 若细胞死亡较多, 可适当缩短孵育时间或降低温度; 若荧光强度过弱, 可适当延长孵育时间。

(6) 去除 Fluo-4 AM Calcium Probe 工作液, 用 PBS 或 HBSS 等缓冲液洗涤细胞 3 次, 随后用该缓冲液重悬细胞, 制成  $1 \times 10^5$  cells/mL 的细胞悬液。

(7) 在 37°C条件下继续培养 10 min, 确保 AM 体在细胞内完全去酯化。

(8) 开展荧光钙离子检测。

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-4 在无细胞介质中的  $K_d$  为 345 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

- 使用含血清的培养基时, 血清中的酯酶会分解 AM ester 体, 降低 Fluo-4 AM Calcium Probe 进入细胞的效果; 含酚红的培养基会使本底值略微偏高, 因此在加入工作液前, 应尽量去除残留培养基。同时, 荧光染料均存在淬灭问题, 操作过程中需注意避光。
- 产品易吸潮, 从冰箱取出后, 需在干燥环境中放置至室温再开封; 由于试剂含量极微量, 开封前应将其短暂离心, 确保粉末落入管底。
- 本产品仅限科研使用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品领域, 也不得存放于普通住宅内。
- 为保障操作人员的安全与健康, 操作时需穿着实验服, 并佩戴一次性手套。