

## Fluo-4, AM 钙离子荧光探针(细胞可透过性)

## Fluo-4, AM Calcium Indicator(Cell Permeant)

### 产品信息

产品名称	编号	规格
Fluo-4, AM 钙离子荧光探针(细胞可透过性)	DY50201	100ug/1mg

### 产品描述

钙指示剂是结合  $\text{Ca}^{2+}$  后显示荧光增强的分子。Fluo-4 是 fluo-3 的类似物,其中两个氯取代基被氟取代,导致在 488 nm 波长处的荧光激发增强,因此荧光信号水平更高。将溶解后的指示剂直接加入含有培养细胞的培养皿中,即可向细胞加载 AM 酯形式的这类钙离子指示剂。这些指示剂可用于荧光和共聚焦显微镜、流式细胞分析以及微孔板筛选应用。

Fluo-4, AM 穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成 Fluo-4, 从而被滞留在细胞内, Fluo-4 若以游离配体形式存在时几乎是非荧光性的,但是当它与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光,最大激发波长为 494nm,最大发射波长为 516nm。可以使用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。用于细胞内钙离子检测时, Fluo-4, AM 的常用浓度为 0.5-5  $\mu\text{M}$ 。

### 保存方式

-20°C干燥避光保存,有效期一年。

### 产品性质

CAS: 273221-67-3

分子式:  $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$

分子量: 1096.94

外观: 橙红色粉末

纯度:  $\geq 90\%$  (HPLC)

### 操作说明

(1) Fluo-4,AM 母液的配制: 用 DMSO 溶解 Fluo-4, AM, 配制成 1-5 mM 的储存液, DMSO 的加入量根据 Fluo-4,AM (MW1096.94) 分子量进行计算(如: 若配制成 1mM 的母液, 需向 50  $\mu\text{g}$  Fluo-4,AM 中加入 45.6  $\mu\text{L}$  DMSO)。

【注】: 溶解用的 DMSO 需要保证新鲜无水, 否则将会导致 AM 体水解, 使荧光染料无法进入细胞, 影响实验效果。

(2) Fluo-4,AM 工作液的配制: 使用 HBSS 将 Fluo-4,AM 稀释成 1-5 $\mu\text{M}$  的工作液。例如: 1 mM 母液配制 1 mL 浓度为 4  $\mu\text{M}$  工作液, 用 1 mL HBSS 溶液稀释 4  $\mu\text{L}$  1 mM 母液即可。

【注】: A. 推荐该探针加载浓度在 4-5  $\mu\text{M}$ , 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, 建议在取得有效结果的基础上尽量使用最低探针浓度。

B. Fluo-4,AM 工作液需现配现用, 避免反复冻存。母液可分装密封冻存。

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

【注】：如果使用含血清的培养基，血清中的酯酶会分解 AM 体，从而降低 Fluo-4, AM 进入细胞的效果。另外含有酚红的培养基会使本底值略微偏高，所以加工作液之前需尽量去除培养基残留。

(4) 将 Fluo-4, AM 工作液加入细胞，加入量以覆盖细胞为准。在 37°C 避光培养 10-60 min，然后除去 Fluo-4, AM 工作液。

【注】：关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30 分钟，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。

(5) 用 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次，以充分去除残留的 Fluo 4-AM 工作液。然后加入 HBSS 溶液覆盖细胞。

(6) 37°C 培养箱孵育约 20-30 分钟，以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。

(7) 用激光共聚焦或荧光显微镜检测细胞，激发波长 494 nm，发射波长 516 nm。

本产品仅作科研用途