

Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针)

产品介绍

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，因此能被 488 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，但当与 Ca^{2+} 结合时，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+} 结合前后都没有明显变化，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，它更适用于测量 Ca^{2+} 尖峰时的高瞬 Ca^{2+} 浓度。

Fluo-3, AM 酯是 Fluo-3 的一种膜渗透形式，可通过孵育载入细胞，然而，一旦进入细胞，它就会被细胞质酯酶水解为 Fluo-3 游离酸。

应用范围

检测细胞内钙离子浓度

产品货号

F3005

储运条件

-20℃避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

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：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品组别

组分	F3005
Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针)	1 mg

产品参数

外观：可溶于DMSO的橙红色固体

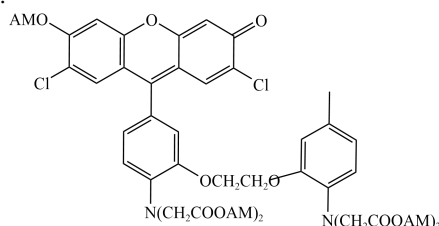
Ex/Em：506/526 nm (结合 Ca^{2+} 后)

CAS号：121714-22-5

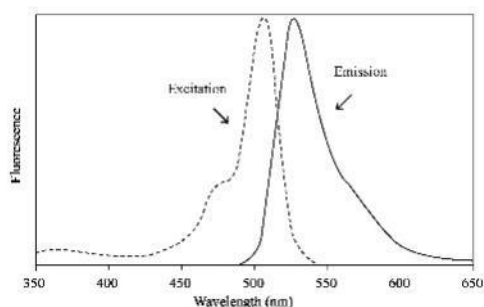
分子式： $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$

分子量：1129.9

分子结构图：



光谱图：



注意事项

1. 如果使用含有血清的培养基，血清中的酯酶会分解 AM ester 体，从而降低 Fluo-3, AM ester 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，加工作液前应尽量去除残留培养基。
2. 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。
3. Fluo-3, AM ester 容易吸潮，从冰箱取出后，请确认在干燥的环境下放至室温后开封。由于试剂极微量，开封前请将其短暂离心，以保证粉末落入管底。
4. Fluo-3, AM ester 遇水极易分解，如果不能一次用完，建议将储液小量分装保存。
5. 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。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作方法

1. 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 Fluo-3, AM ester 储液，制备 4 μM 的 Fluo-3, AM ester 工作液。

注：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使用最低探针浓度。

3. (可选) 如果 Fluo-3, AM ester 进入细胞的效果不好，可向 Fluo-3, AM ester 溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液，防止 Fluo-3, AM ester 在缓冲液中聚集并促进 Fluo-3, AM ester 进入细胞，Pluronic F-127 终浓度控制在 0.04~0.05%。

注：(1)20% (w/v) 的 Pluronic F-127 DMSO 母液配制：100 mg Pluronic F-127 中加入 0.5 mL DMSO，配制成 20% (w/v) 的 DMSO 母液，溶解需要在 40~50℃加热 20~30 min，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。

(2)Pluronic F-127 可降低 Fluo-3, AM ester 的稳定性，因此只建议在配制工作液时加入，不建议将其加入储液中。

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

5. 去除缓冲液，将 Fluo-3, AM ester 工作液加入细胞中，37℃培养 10~60 min。

注：如果首次实验不能确定孵育温度和时间，建议尝试 37℃孵育 20 min，观察荧光效果。若细胞死亡较多，则适当缩短时间或降低温度；如果荧光强度太弱，则适当延长时间。

6. 去除 Fluo-3, AM ester 工作液，用 PBS 或 HBSS 等缓冲液洗涤细胞 3 次，然后用 PBS 或 HBSS 等缓冲液重悬细胞，制成 1×10^5 cells/mL 的细胞悬液。

7. 37℃培养 10 min，确保 AM ester 在细胞内的完全去酯化作用。

8. 进行荧光钙离子检测。

注：钙浓度与荧光的关系式为： $[\text{Ca}^{2+}] = K_d [(F - F_{\min}) / (F_{\max} - F)]$

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。 $F_{\max}$ 为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。然而， K_d 通常会受到细胞中多种因素的影响，包括 pH 值、蛋白质浓度、离子强度、温度和粘度。因此，要准确测量细胞内的钙浓度，必须校准 K_d 。详细信息，请参阅参考文献。

同系列产品

产品货号	产品名称	选择指南
F3005	Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针)	经典绿色钙离子探针，灵敏度良好
F3015	Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针，2 mM)	F3005 的液体形式，使用方便
F3013S	Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针)	比 F3005 荧光更亮
F3014	Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针，2 mM)	F3013S 的液体形式，使用方便

相关联产品

产品货号	产品名称
B3006	BCECF, AM ester (pH荧光探针)
B3016	BCECF AM (pH荧光探针, 5 mM)
M3001	Furaptra(Mag-Fura-2), 四钠盐
F3013S	Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针)
F3015	Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)
F3014	Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)
F3005	Fluo-3, AM ester (钙离子荧光探针)
M3002	MQAE氯离子荧光探针