

Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针)

产品介绍

Fluo-4 是基于 Fluo-3 结构优化而来的新一代钙荧光探针，其核心改进在于将结构中的氯原子替换为电子吸引力更强的氟原子。这一取代使其最大激发波长相较于 Fluo-3 蓝移约 10 nm，从而与氩离子激光器常用的 488 nm 激发线匹配度更高，显著提升了检测灵敏度。

Fluo-4, AM 是 Fluo-4 的膜渗透性乙酰甲酯衍生物。它可被动扩散进入细胞，其 AM 基团可被胞内酯酶水解，生成无法透过细胞膜的 Fluo-4 游离酸，从而被有效截留在细胞内。Fluo-4 游离酸在静息状态下几乎无荧光，但与细胞内 Ca^{2+} 结合后，其荧光强度可增强超过 100 倍。该产品兼容激光共聚焦显微镜及流式细胞仪，是监测胞内钙离子动态变化的理想工具。

应用范围

钙离子浓度检测

产品货号

F3013S/F3013L

储运条件

-20°C 干燥避光保存，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；

批间差小：公司自研产品，批间差稳定；

选择灵活方便：可搭配我司其它试剂使用，方便灵活。

产品组分

组分	F3013S	F3013L
Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针)	50 µg	10 × 50 µg

产品参数

外观：可溶于DMSO的橙红色粉末

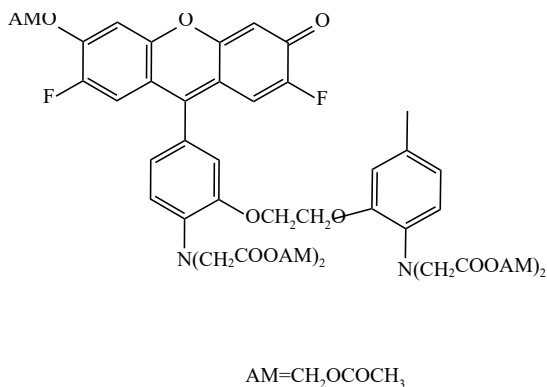
Ex/Em：494/516 nm (结合 Ca^{2+} 后)

CAS 号：273221-67-3

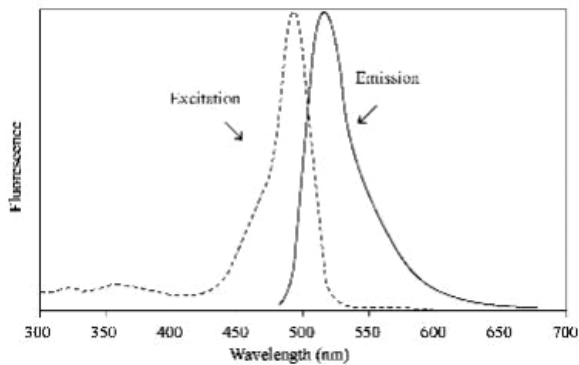
分子式： $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$

分子量：1097

分子结构图：



光谱图：



注意事项

1. Fluo-4, AM ester容易吸潮，遇水极易分解，从冰箱取出后，请确认在干燥的环境放至室温后开封。制成储液后如果不能一次用完，建议将储液小量分装保存。
2. 由于试剂极微量，开封前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
3. 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-4, 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。
4. Fluo-4 AM ester，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。
5. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材
离心管
2. 试剂
(1) 无水 DMSO (2) PBS/HBSS/AM 酯通用 Assay buffer (L6028)
3. 仪器
荧光显微镜或流式细胞仪

操作方法

1. Fluo-4, AM ester 储液准备：室温复温 1 管 1 mg Fluo-4, AM ester 染料后，加入 456 µL 无水 DMSO，溶解混匀，配制成 2 mM 的储液。
注：配制好的储液建议分装保存放置 -20°C，且最好用封口膜缠紧管盖。
2. Fluo-4, AM ester 工作液准备：用 HBSS/AM 酯通用 Assay buffer (L6028) 将其稀释制成 4 µM 的 Fluo-4, AM ester 工作液。
注：(1) 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，可从 4 µM 开始摸索。
(2) AM 酯通用 Assay buffer (L6028) 有利于 AM 酯荧光探针的装载和荧光信号的维持，若细胞较为敏感，建议使用该 buffer 配制上述染色工作液。
(3) Pluronic F-127 可增加 Fluo-4, AM ester 的分散性，帮助 Fluo-4, AM ester 加载。若是直接使用 HBSS 配制的工作液加载效果不好，可在配制工作液时加入 0.04%~0.05% Pluronic F-127。
3. 取出预培养的细胞，除去培养基，使用 PBS 或 HBSS 溶液洗涤细胞 2 次。
注：由于培养基中的血清等含有酯酶，会分解 Fluo-4, AM ester，所以需要清洗去除培养基。
4. 吸弃缓冲液，将 Fluo-4, AM ester 工作液加入细胞中，37°C 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°C 孵育 20 min，观察荧光效果。若荧光较强，则适当缩短时间或降低温度；若荧光强度太弱，则适当延长时间。

- 吸弃 Fluo-4, AM ester 工作液，用 HBSS/AM 酯通用 Assay buffer (L6028) 洗涤细胞 3 次，最后加入适量的缓冲液，37°C 培养 10 min，确保 AM ester 在细胞内的完全去酯化作用。
- 进行荧光钙离子检测。

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

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-4 在无细胞介质中的 Kd~335–345 nM，然而，Kd 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、温度和黏度。因此，要准确测量细胞内的钙浓度，必须校准 Kd。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
F3013	Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针)	通用绿色钙离子探针，荧光亮度强于比F3005
F3014	Fluo-4, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)	F3013的液体形式，使用方便
F3017	Fluo-8, AM ester (钙离子荧光探针)	光稳定性与量子产率优于F3005和F3013，
F3018	Fluo-8, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)	F3017的液体形式，使用方便
F3019	Fluo-5F, AM ester (钙离子荧光探针)	适合追踪微摩尔级别的大幅度钙瞬变
F3020	Fluo-5F, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)	F3019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
F3017	Fluo-8, AM ester (钙离子荧光探针)
F3018	Fluo-8, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)
F3019	Fluo-5F, AM ester (钙离子荧光探针)
F3020	Fluo-5F, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)