

Fluo-8, AM ester (钙离子荧光探针, 2mM)

产品介绍

Fluo-8, AM ester 是在 Fluo-3 AM 和 Fluo-4 AM 基础上开发的一代可见光激发钙荧光探针。它在保留 Fluo-3/Fluo-4 便捷光谱特性 (最大激发波长约 490 nm, 最大发射波长约 520 nm, 兼容 488 nm 氩激光与 FITC 检测通道) 的同时, 显著提升了细胞加载效率与钙响应性能。有资料显示, Fluo-8, AM ester 在室温下即可完成加载, 在活细胞中的荧光亮度达到 Fluo-4, AM ester 的 2 倍、Fluo-3, AM ester 的 4 倍, 是目前 488 nm 激发下信号最强的 Ca^{2+} 荧光探针之一。相比之下, Fluo-3, AM ester 和 Fluo-4, AM ester 经酯酶水解后在活细胞中仅呈现中等强度荧光, 且需在 37°C 条件下加载才能获得理想的钙响应。

Fluo-8, AM ester 是 Fluo-8 的乙酰甲酯衍生物, 具有良好的细胞膜渗透性, 仅需简单孵育即可有效进入细胞。进入细胞后, Fluo-8, AM ester 其 AM 基团可被胞内酯酶水解, 生成无法透过细胞膜的 Fluo-8 游离酸, 从而被有效截留在细胞内。Fluo-8 游离酸在静息状态下几乎无荧光, 但与细胞内 Ca^{2+} 结合后, 其荧光强度可增强约 200 倍。可通过激光共聚焦显微镜或流式细胞仪进行检测, 实现对细胞内钙离子浓度动态变化的高灵敏监测。

应用范围

钙离子浓度检测

产品货号

F3018

储运条件

-20°C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

荧光亮度强: 荧光亮度是 Fluo-4 AM 的两倍, 是 Fluo-3 AM 的四倍;
加载条件灵活: 温度依赖性不高, 在室温或 37°C 孵育染色效果均良好, 更适用于高通量筛选实验;
批间差小: 公司自研产品, 批间差稳定;
可见光激发: 提高操作便捷性, 组织的穿透性好, 且对样本友好。

产品组别

组分	F3018
Fluo-8, AM ester (钙离子荧光探针, 2 mM)	50 μL

产品参数

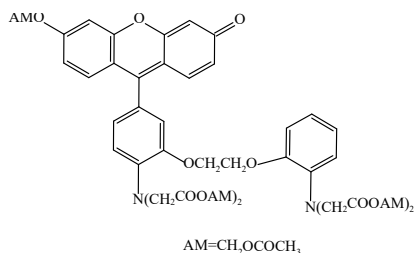
Ex/Em: 494/516 nm (结合 Ca^{2+} 后)

CAS 号: 1345980-40-6

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

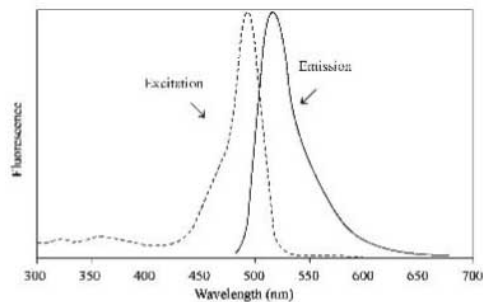
分子量: 1046.9

分子结构图:



本产品仅供科研使用, 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

光谱图:



注意事项

1. Fluo-8, 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。如果开封后不能一次用完, 建议将试剂小量分装保存。
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-8, 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-8 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
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. 将溶液形式的 Fluo-8, AM ester 染液取出于室温回温, 瞬时离心 30s 将染液离心至管底。

2. Fluo-8, 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-8, 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-8, AM ester 的分散性, 帮助 Fluo-8, 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-8, AM ester, 所以需要清洗去除培养基。

4. 吸弃缓冲液, 将 Fluo-8, 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。

5. 吸弃 Fluo-8, 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。

6. 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-8 在无细胞介质中的 Kd~389 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。

FAQ

1. 问：Fluo-8, AM ester 孵育后发现细胞死亡太多怎么办？
答：首先应评估染料的浓度和处理时间是否合适。Fluo-8, AM ester 虽然相对较为安全，但过高的浓度或过长的染色时间仍可能导致细胞损伤。建议降低染料浓度或缩短染色时间，并在实验过程中密切观察细胞状态

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)