

## Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)

| 产品编号            | 产品名称                                         | 包装规格    |
|-----------------|----------------------------------------------|---------|
| NBS7636-1mg     | Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%) | 1mg     |
| NBS7636-20x50ug | Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%) | 20x50ug |

【温馨提示】: 见我司整理的钙离子载体/探针 (Calcium ionophores/indicators) 产品专题。

### 产品简介:

Fluo-3 是一种常用的可见光激发波长  $\text{Ca}^{2+}$  荧光探针, 具有较高的  $\text{Ca}^{2+}$  捕获能力, 通过荧光强度的变化直接反映  $\text{Ca}^{2+}$  信号的动力学变化。当 Fluo-3 以游离配体形式存在时几乎是而非荧光性的, 但一旦与  $\text{Ca}^{2+}$  结合即可产生很强的荧光, 荧光信号增强 60~80 倍, 此时的最大激发波长为 506nm, 最大发射波长为 526nm。可通过激光共聚焦显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪等来检测胞内钙离子水平的变化。

Fluo-3, AM 是 Fluo-3 的一种乙酰甲酯衍生物, 具有细胞膜渗透性, 只需简单培养, 即可轻易进入细胞。一旦进入细胞内, 即被其内酯酶剪切生成不具膜渗透性的 Fluo-3, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。本品以冻干粉的形式提供, 使用时只需经无水 DMSO 充分溶解, 配置成 2~5mM 的储存液, 并依据具体实验和相关文献资料调整到需要的工作浓度即可。

### 产品特性:

- 1) CAS NO: 121714-22-5
- 2) 同义名: Fluo-3, Acetoxymethyl Ester
- 3) 分子式:  $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$
- 4) 分子量: 1129.85
- 5) 纯度:  $\geq 95\%$  (HPLC)
- 6) 解离常数 ( $K_d$ ): 390nM ( $\text{Ca}^{2+}$ )
- 7) 最大激发/发射波长: 506/526 nm
- 8) 溶解性: 溶于 DMSO (2-5mM)

### 保存条件:

-20°C 干燥避光保存, 有效期至少 1 年。

**产品使用：（针对人 T 细胞  $\text{Ca}^{2+}$  浓度检测）****A, 试剂准备**

## 1) 配制 Pluronic F-127 母液

100mg Pluronic F-127 粉末（货号：NBS2009）中加入 500 $\mu\text{l}$  DMSO，配制成 20%(w/v) DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50 $^{\circ}\text{C}$  加热 20-30min。溶液室温保存，不用冷藏。如有结晶析出，可以重新加热后溶解，不影响使用。

2) Hanks Balanced Salt Solution (HBSS), w/o  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ 

## 3) HEPES Buffer Saline

配方：10mM HEPES, 1mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 137mM NaCl, 5mM KCl, 1mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.5mM  $\text{MgCl}_2$ , 5mM glucose, 0.1% BSA, pH 7.4

**B, 操作步骤**

1) 用无水 DMSO 溶解 Fluo-3, AM 配制成 2-5mM 的储存液，或将已配好的 Fluo-3, AM 储存液取出于室温回温。（如：若配制成 4mM 的母液，需向 50 $\mu\text{g}$  Fluo-3, AM 中加入 11 $\mu\text{l}$  无水 DMSO）。

2) 向 Fluo-3, AM+DMSO 溶液中加入等体积的 20% Pluronic F-127 溶液, Pluronic F-127 可以防止 Fluo-3, AM 在 HBSS 中聚合并促使探针更好进入细胞。【注】：Pluronic F-127 可降低 Fluo-3, AM 的稳定性，因此只建议在配制工作液时加入，不建议将其加入储存液长期保存。

3) 用 HBSS 稀释 Fluo-3, AM 溶液，制备 2-5 $\mu\text{M}$  的 Fluo-3, AM 工作液。【注】：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浓度探针。

4) 将 Fluo-3, AM 工作液加入细胞，加入量以覆盖细胞为准。37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 20min。

5) 加入 5 倍体积的含有 1% FBS 的 HBSS，继续孵育 40min。

6) 用 HEPES Buffer Saline 洗涤细胞 3 次，然后用 HEPES Buffer Saline 使细胞重悬，制成  $1 \times 10^5 \text{ cells/ml}$  的溶液。

7) 37 $^{\circ}\text{C}$  孵育 10min，之后用流式细胞仪或者共聚焦显微镜进行荧光钙离子检测。最大激发波长 506nm，最大发射波长 526nm。

**注意事项：**

1. 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。
2. 乙酰氧基甲基酯（AM）易吸潮，冰箱取出后请在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂微量，开封前请将其短暂离心，以保证粉末落入管底。

3. Fluo-3, AM 在 4°C、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内, 可在 20-25°C 温育片刻至全部融解后使用。
4. 基于 BAPTA 结构的钙离子指示剂比如 Fluo-3, Fluo-4, 能够结合很多重金属阳离子 (比如:  $Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Pb^{2+}$ ) 且实质上亲和力高于  $Ca^{2+}$ 。因此, 由于这些重金属离子存在对钙测定的干扰可使用重金属螯合剂-TPEN (货号: NBS5877) 来控制。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

**相关产品:**

| 产品编号                | 产品名称                                                               | CAS NO.     | 包装规格 |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------|------|
| <u>NBS2009-1g</u>   | <u>Pluronic®F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级</u>                   | 9003-11-6   | 1g   |
| <u>NBS2010-1ml</u>  | <u>Pluronic® F-127 (20% Solution in DMSO), Cell Culture Tested</u> | 9003-11-6   | 1ml  |
| <u>NBS7636-50ug</u> | <u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>                | 121714-22-5 | 50ug |
| <u>NBS7637-1mg</u>  | <u>Fluo-3, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>                | 121714-22-5 | 1mg  |
| <u>NBS7638-50ug</u> | <u>Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>                      | 273221-67-3 | 50ug |
| <u>NBS7639-50ug</u> | <u>Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>                      | N/A         | 50ug |
| <u>NBS7640-50ug</u> | <u>Rhod-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>                      | 129787-64-0 | 50ug |
| <u>NBS7641-50ug</u> | <u>Rhod-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯</u>                      | N/A         | 50ug |
| <u>NBS7642-50ug</u> | <u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>                | 108964-32-5 | 50ug |
| <u>NBS7643-1mg</u>  | <u>Fura-2, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>                | 108964-32-5 | 1mg  |
| <u>NBS7644-50ug</u> | <u>Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯 (95%)</u>                | 112926-02-0 | 50ug |
| <u>NBS7645-1mg</u>  | <u>Indo-1, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 标准纯 (90%)</u>                | 112926-02-0 | 1mg  |