

Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯

产品编号	产品名称	包装规格
NBS7638-50ug	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50ug
NBS7638-250ug	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	5x50ug
NBS7638-500ug	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	10x50ug
NBS7638-1mg	Fluo-4, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	1mg

【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-4 是可见光激发波长 Ca^{2+} 荧光探针 Fluo-3 (货号: NBS7636) 的改良版本, 通过将 Fluo-3 结构上的氯离子 (Cl^-) 替换为电子吸引力更强的氟离子 (F^-), 使得最大激发波长往短波长偏移 10nm 左右。正由于这个波长更接近氩激光器的波长, 则当使用氩激光器来激发探针 Fluo-4, 能够得到更强的荧光强度, 比 Fluo-3 强一倍。另外, Fluo-4 的 Ca^{2+} 亲和力几乎接近 Fluo-3 (Fluo-3: $K_d=0.4\mu\text{M}$ 、Fluo-4: $K_d=0.36\mu\text{M}$), 因此, 使用上几乎同 Fluo-3。 Ca^{2+} 结合后的最大激发波长为 494nm, 最大发射波长为 516nm。可通过激光共聚焦显微镜或流式细胞仪来检测胞内钙离子水平的变化。

Fluo-4, AM 是 Fluo-4 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-4, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。

产品特性:

- 1) CAS NO: 273221-67-3
- 2) 同义名: Fluo-4, Acetoxymethyl Ester
- 3) 分子式: $\text{C}_{51}\text{H}_{50}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_{23}$
- 4) 分子量: 1096.94
- 5) 纯度: $\geq 95\%$ (HPLC)
- 6) 外观: 橙红色粉末
- 7) 最大激发/发射波长: 494/516 nm (Ca^{2+} -bound)

保存条件:

-20℃干燥避光保存，有效期至少 1 年。

可见光激发 Ca^{2+} 荧光探针的优势:

与紫外光激发的荧光探针相比，如 Fura-2 和 Indo-1，可见光激发 Ca^{2+} 探针具有以下特点：

- 1) 适用于大多数的激光共聚焦测钙系统，包括共聚焦激发扫描显微镜以及流式细胞仪等。
- 2) 具有更强的染料吸收性能，使得更低浓度的探针即可成功检测 Ca^{2+} 变化，从而降低对活细胞的光毒性。
- 3) Ca^{2+} 依赖性荧光强度增强，对 Ca^{2+} 变化水平检测敏感度更高。
- 4) 降低样品自荧光以及光散射的干扰。
- 5) 兼容光激活探针以及 UV-激发试剂，因此更方便于多参数检测。
- 6) 无光谱偏移。

Fluo-4, AM 相比较于 Fluo-3 的优势:

- 1) 激发和发射波长往短波长偏移 10nm，更接近氩激光器的波长，。因此，当使用 488nm 进行荧光激发，得到更强的荧光信号，比 Fluo-3 强一倍。
- 2) 50μg 小包装供应，使用方便，且能很好保证产品的稳定性。

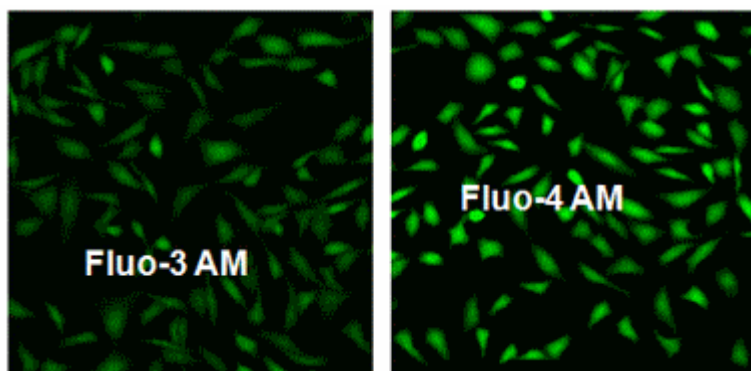
Fluo-4, AM 的应用图片:

Fig. 1, U2OS cells were seeded overnight at 40,000 cells per 100 μL per well in a 96-well black wall/clear bottom costar plate. The growth medium was removed, and the cells were incubated with 100 μl of 4 μM Fluo-3, AM or Fluo-4, AM in HHBS at 37 °C, 5% CO₂ incubator for 1 hour. The cells were washed twice with 200 μl HHBS, then imaged with a fluorescence microscope using FITC channel.

产品使用：

A, 试剂准备

- 1) 配制 Pluronic F-127 母液：称取 100mg Pluronic F-127 粉末（货号：NBS2009）中加入 500 μ l DMSO，配制成 20%(w/v) DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50°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) HHBS Buffer (1X Hank' s Balanced Salt Solution with 20mM HEPES buffer, pH 7.3) 或者其他生理缓冲液

B, 操作步骤

- 1). Fluo-4/AM 储存液的配制 利用高质量无水 DMSO 溶解 Fluo-4/AM 配制成 2-5mM 的储存液，该储存液可分装于-20°C 避光干燥密封保存，最长可保存 6 个月，但是避免反复冻融，建议分装保存。每次使用前需回温至室温。
- 2). Fluo-4/AM 工作液的配制 利用合适缓冲液（如 HHBS）将 Fluo-4/AM 稀释成 2-20 μ M 的工作液，并添加 0.04% Pluronic F-127 和有机阴离子转运 抑制剂 probenecid (0.5-1mM)。

【注①】 对于大多数细胞系，建议最终浓度为 4-5 μ M 的 Fluo-4AM。细胞加载所需的指示剂的确切浓度必须根据经验确定。

【注②】 Fluo-4/AM 工作液需现配现用，避免反复冻存。

【注③】 Pluronic F-127 可以防止 Fluo-4/AM 在缓冲液中聚合并能帮助其进入细胞。

- 3). 取出预培养的细胞，除去培养基，使用缓冲液洗涤细胞 3 次。

【注①】：如果使用含血清的培养基，血清中的酯酶会降低 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 培养 30-60min。
5. 用缓冲液（如 HHBS）洗涤细胞 3 次，以充分去除残留的 Fluo-4/AM 工作液。然后加入缓冲液覆盖细胞。
6. 数字成像显微镜检测细胞。

【注①】：某些细胞具有自体荧光会影响结果分析，需使用未加载探针细胞做对照，在结果分析时在同一波长下扣除自荧光。

注意事项：

1. 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它用途！

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