

## Fluo-8, 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
NBS7639-50ug	Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	50ug
NBS7639-250ug	Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	5x50ug
NBS7639-20x50ug	Fluo-8, AM, Cell Permeant 钙离子荧光探针, 超级纯	20x50ug
NBS7639-1mg	Fluo-8, 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-8, 是目前最亮的可见光激发波长  $\text{Ca}^{2+}$  荧光探针, 其荧光强度比 Fluo-4 强两倍, 比 Fluo-3 强四倍。Fluo-8 具中等程度的  $\text{Ca}^{2+}$  亲和力, 几乎接近 Fluo-3, Fluo-4 (Fluo-3:  $K_d=0.4\mu\text{M}$ 、Fluo-4:  $K_d=0.36\mu\text{M}$ 、Fluo-4:  $K_d=0.389\mu\text{M}$ ), 使用上几乎同 Fluo-3 和 Fluo-4。

Fluo-8 不仅维持 Fluo-3, Fluo-4 便捷的光谱检测特性, 与  $\text{Ca}^{2+}$  结合后的最大激发波长为 490nm, 最大发射波长为 514nm。而且具有改善的细胞载入和  $\text{Ca}^{2+}$  响应能力。Fluo-8 加载具较弱的温度依赖性, 在室温或  $37^\circ\text{C}$  孵育皆染色良好, 不像 Fluo-3, Fluo-4 严格要求在  $37^\circ\text{C}$  孵育, 此特征使其更适用于 HTS 高通量筛选实验。Fluo-8 应用广泛, 与许多细胞系和靶向样本兼容, 不会受配体或靶标本身信号干扰。Fluo-8 可通过激光共聚焦显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪、荧光显微镜等来检测胞内钙离子水平的变化。

Fluo-8, AM 是 Fluo-8 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-8, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。本品以  $50\mu\text{g}$  小包装的冻干粉形式供货, 用于细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平检测时, 常用浓度为  $1-5\mu\text{M}$ 。

### 基本特性:

- 1) 同义名: Fluo-8, Acetoxymethyl Ester; Fluo-2, AM; Fluo-2 Medium Affinity, Acetoxymethyl Ester;
- 2) 化学名: Bis(acetoxymethyl)

2,2'-((4-(6-(acetoxymethoxy)-3-oxo-3H-xanthen-9-yl)-2-(2-(bis(2-acetoxymethoxy)-2-oxoethyl)amino)phenoxy)ethoxy)phenyl)azanediyl)diacetate

3) 分子式: C<sub>50</sub>H<sub>50</sub>N<sub>2</sub>O<sub>23</sub>

4) 分子量: 1046.93

5) 最大激发/发射波长: 490/514 nm (Ca<sup>2+</sup>结合)

6) 溶解性: 溶于 DMSO (1~5mM)

### 保存条件:

-20°C干燥避光保存, 有效期一年。

**产品使用:** 【注意】以下使用方法仅用作参考, 可根据具体的实验条件做出调整。

### 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 500μl 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. 用无水 DMSO 溶解 Fluo-8, AM 配制成 1-5mM 的储存液, 或将已配好的 Fluo-8, AM 储存液取出于室温回温。(如: 若配制成 4mM 的母液, 需向 50μg Fluo-8,AM 中加入 11.9μl 无水 DMSO)。

2. 用 HHBS 或其他生理缓冲液将 Fluo-8, AM+DMSO 储存液稀释到 1-10μM 的工作液, 提前加入适量的 20% Pluronic F-127 溶液, 使其终浓度为 0.02%。

【注①】: Fluo-8, AM 应用在大部分细胞的推荐加载浓度为 4-5μM, 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探针浓度。

【注②】: Fluo-8, 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-8, AM 在溶液中聚合并促使探针更好进入细胞。但 Pluronic F-127 可降低 Fluo-8, AM 的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议加入储存液长期保存。

3. 【可选】如果细胞内含有有机阴离子转运体, 丙磺舒 (Probenecid, 1-2.5mM) 或磺吡酮 (Sulfipyrazone, 0.1-0.25mM) 可能需要加入细胞培养基内, 以降低去酯化探针的泄露

水平。

【注①】：丙磺舒或磺吡酮储存液相当偏碱，因此加入培养基后需要重新调整 pH。

4. 将准备好的 Fluo-8, AM 工作液加入细胞，加入量以覆盖细胞为准。37°C 或者室温孵育 20-60min。

【注①】：关于孵育的时间，如果首次做实验不能确定，建议先孵育 30min，看荧光效果；如果细胞死亡较多，适当缩短时间；如果荧光强度太弱，适当延长时间。

【注②】：降低探针加载温度可能会降低探针的区室化现象。

5. 吸掉染色工作液，并用 HHBS 或其他生理缓冲液（如有必要，使用含转运体抑制剂如 2.5mM 丙磺酸的缓冲液）替换，以去除多余探针。

6. 用适当的仪器如激光共聚焦、流式细胞仪、荧光酶标仪，以及波长 Ex/Em=490/520 nm 来进行检测。

【注①】：Fluo-8, AM 进入胞内后，经酯酶降解形成 Fluo-8，并不是以共价结合的形式滞留在细胞质内。因此不可对加载染料的活细胞进行固定处理，再进行 Ca<sup>2+</sup>水平检测。

#### 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-8, 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. Fluo-8, AM 第一次使用，建议储存液现配现用，分装成单次用量，严格做到 ≤ -20°C 密封干燥冻存，以防止受潮。为了保证良好的实验效果，尽量在短时间内使用。
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