

钙离子探针 Fluo-4AM 说明书

货号：IF1500

保存：Powder:-20°C,1 year;Insolvent(母液):-20°C,6 months;-80°C,1 year (protect from light)

产品简介

Fluo-4 是一种将 Fluo-3 结构中的 Cl 替换成 F 的钙荧光探针。由于将 Cl 替换成了电子吸引力更强的 F，它的最大激发波长会向短波长处偏离 10 nm 左右。这个波长更接近于氩激光器的波长，所以用氩激光器激发时，Fluo-4 的荧光强度比 Fluo-3 更强。

Fluo-4, AM 穿透细胞膜进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成 Fluo-4，从而被滞留在细胞内，Fluo-4 若以游离配体形式存在时几乎是非荧光性的，但是当它与细胞内钙离子结合后可以产生较强的荧光。可以使用激光共聚焦显微镜或流式细胞仪检测细胞内钙离子浓度的变化。

产品参数

Ex/Em: 494/516 nm

CAS : 273221-67-3

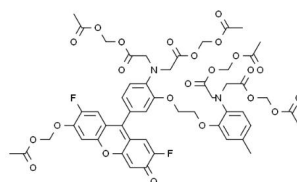
分子式: $C_{51}H_{50}F_2N_2O_{23}$

分子量: 1096.94

纯度: $\geq 95\%$

外观: Orange Solid

溶解性: Soluble in DMSO



使用说明 (for Human T cells, 仅供参考)

自备试剂 (可选)

1. Hanks balanced salt solution (HBSS): 建议使用不含钙镁、不含酚红的 HBSS (Cat No: H1045)
2. HEPES buffer saline: 10mM HEPES, 1mM Na_2HPO_4 , 137mM NaCl, 5mM KCl, 1mM $CaCl_2$, 0.5mM $MgCl_2$, 5mM Glucose, 0.1% BSA, pH 7.4 (Cat No: H1070)
3. 20% Pluronic F127 储备液: 100mg Pluronic F127 粉末溶于 0.5mL DMSO。 (Cat No: P6791)

注: a. 溶解需要在 40-50°C 加热 20-30 min。溶解后室温保存, 勿冷藏。如果有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。

b. Pluronic F-127 可降低 Fluo-4, AM 的稳定性, 因此只建议在配制工作液时加入, 不建议将其加入储液中。

制备储存液

用 DMSO 配制 2mM 的储备液。如: 1 mg Fluo-4, AM 粉末溶于 455.8 μ L DMSO 中。

注: a. 未使用的储存液建议分装储存在 -20°C, 避免反复冻融。

b. 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响, 请使用新开封的 DMSO。

工作液的配制

用合适的缓冲液 (如: HBSS 或 PBS 等) 稀释储液, 配制成 4-20 μ M 的 Fluo-4, AM 工作液。

注: a. 工作液最终浓度建议根据不同细胞系和实验体系来优化。

- b. 发现较难溶解时可以适当超声处理以促进溶解。
- c. 为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 μ M 开始摸索。

染色

- 1) 取出预培养的细胞，除去培养基，使用 PBS 或 HBSS 溶液洗涤细胞 3 次。
- 2) 去除缓冲液，将 Fluo-4, AM 工作液加入细胞中，在 37°C 培养 10-30 min。
注：a. 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。
b. 若细胞死亡较多，则适当缩短时间或降低温度；如果荧光强度太弱，则适当延长时间。
- 3) 加入 5 倍体积的含有 1% 胎牛血清的 HBSS，再继续培养 40 min。
- 4) 用 HEPES buffer saline（或 PBS、HBSS）等缓冲液洗涤细胞 3 次，然后用 HEPES buffer saline 等缓冲液重悬细胞，制成 1×10^5 cells/mL 的细胞悬液。
- 5) 37°C 培养 10 min，确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。
- 6) 进行荧光钙离子检测。

注意事项

1. 本产品为冻干粉形式，可能会粘附在管壁上，是正常现象，可放心使用。
2. 标记的条件因细胞种类而异，在每次实验前，请先确定最佳条件。
3. Fluo-4, AM 容易吸潮，从冰箱取出后，请确认在干燥的环境放至室温后开封。由于试剂极微量，开封前请将其短暂离心，以保证粉末落入管底。
4. 如果使用含有血清的培养基，血清中的脂酶会分解 AM 体，从而降低 Fluo-4, AM 进入细胞的效果。
5. 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，应该尽量去除培养基残留。
6. 如果 Fluo-4, AM ester 进入细胞的效果不好，可向 Fluo-4, AM 溶液中加入适量 20 % Pluronic F-127 溶液，防止 Fluo-4, AM ester 在缓冲液中聚集并促进 Fluo-4, AM 进入细胞，Pluronic F-127 终浓度控制在 0.04-0.05 %。
7. 荧光染料均存在淬灭问题，请注意避光，以减缓荧光淬灭。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
9. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

使用本产品发表的文献

- [1]. Zheng J, Lu T, Zhou C, Cai J, Zhang X, Liang J, Sui X, Chen X, Chen L, Sun Y, Zhang J, Chen W, Zhang Y, Yao J, Chen G, Yang Y. Extracellular Vesicles Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Protect Liver Ischemia/Reperfusion Injury by Reducing CD154 Expression on CD4⁺ T Cells via CCT2. *Adv Sci (Weinh)*. 2020 Aug 20;7(18):1903746. doi: 10.1002/advs.201903746. PMID: 32999825. (IF:15.4)
- [2]. Zhao P, Gong L, Chang L, Du H, Geng M, Meng S, Dai L. Multifunctional Fe-based coordination polymer nano-bomb modified with β -lapachone and CaO₂ for targeted tumor dual chemodynamic therapy with enhanced ferroptosis and H₂O₂ self-supply. *J Nanobiotechnology*. 2024 Jan 3;22(1):3. doi: 10.1186/s12951-023-02287-2. PMID: 38166978. (IF:10.2)

注：更多文献请登录 Solarbio 官网查询。