

产 品 说 明 书

产品介绍

在众多生物研究领域，钙含量测定都起着至关重要的作用。借助那些与 Ca^{2+} 结合后产生光谱响应的荧光探针，研究人员能够运用荧光显微镜、流式细胞术、荧光酶标仪等仪器，对细胞内游离 Ca^{2+} 浓度的变化情况展开研究。

Fluo-3 AM 和 Fluo-4 AM 是在活细胞钙成像研究里最为常用的可见光可激发钙指示剂。不过，这两种指示剂存在一定局限性。它们在经过酯酶水解后，于活细胞中仅能呈现出中等强度的荧光。而且，为了使细胞钙反应达到最佳效果，需要较为苛刻的细胞加载条件。Fluo-8 AM 染料的研究初衷便是解决上述问题，它在保持与 Fluo-3 AM 和 Fluo-4 AM 相似且便于使用的光谱波长 ($\text{Ex/Em} = \sim 490/\sim 520 \text{ nm}$) 的同时，显著改善了细胞负载情况以及钙反应效果。例如，Fluo-8 AM 可以在室温条件下完成细胞上样，而 Fluo-3 AM 和 Fluo-4 AM 则必须在 37°C 的环境中才能进行细胞上样操作。不仅如此，Fluo-8 AM 是目前最亮的可见光激发波长 Ca^{2+} 荧光探针，是 Fluo-4 AM 的两倍，更是 Fluo-3 AM 的四倍。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。综上所述，Fluo-8 AM 是 Fluo-3 AM 和 Fluo-4 AM 的完美替代品。

应用范围：钙离子检测

产品货号：BN13017

产品规格：1 mg

储运条件： -20°C 避光保存，冰袋运输。

产品特点

1. 相较于 Fluo-3 AM、Fluo-4 AM

- 灵活的加载条件：**Fluo-8 AM 的加载具较弱的温度依赖性，在室温或 37°C 孵育染色效果均良好，不像 Fluo-3 AM、Fluo-4 AM 严格要求在 37°C 孵育，此特征使其更适用于高通量筛选实验；
- 卓越的亮度：**Fluo-8 AM 亮度表现十分出色，是 Fluo-4 AM 的两倍，更是 Fluo-3 AM 的四倍。

2. 相较于其他紫外光激发的荧光探针如 Fura-2 和 Indo-1

- 1) **样本的友好性**: 可在可见光范围内被激发, 这避免了紫外光对细胞的损伤。很多生物样品尤其是活细胞对紫外光较为敏感, 紫外光照射可能导致细胞内物质的光化学反应、DNA 损伤等, 而可见光激发则能更好地维持细胞的生理状态, 适合长时间的细胞内钙离子动态监测;
- 2) **组织穿透性好**: 紫外光在生物组织中穿透能力差, 且易被组织吸收和散射。可见光波长较长, 在生物组织中的穿透深度更大, 能用于较厚组织样本或体内深部组织的 Ca^{2+} 检测, 这使得其在体内成像研究中更具优势;
- 3) **操作便捷性**: 可见光激发 Ca^{2+} 探针使用可见光激发, 普通荧光显微镜就能满足需求, 降低了实验设备成本和操作难度;
- 4) **与其他荧光标记兼容性好**: 在多色荧光成像实验中, 紫外激发探针可能会与其他荧光标记物的激发光谱相互干扰。可见光激发 Ca^{2+} 探针可选择合适的可见光波长进行激发, 能与更多的荧光标记物配合使用, 便于同时对多种生物分子进行标记和检测。

产品参数:

外观: 可溶于 DMSO 的固体粉末

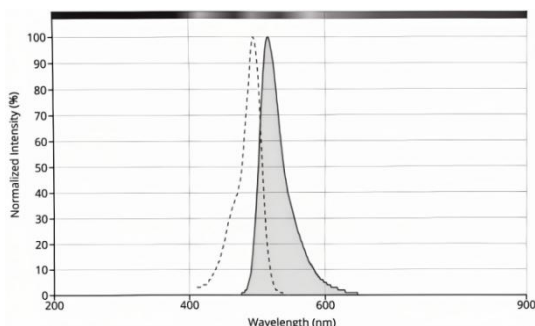
CAS 号: 1345980-40-6

Ex/Em: 495/516 nm

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

分子量: 1046.93

光谱图:



产品组分

组分	C22609 (1910 T)
Fluo-8 AM Calcium Probe	1 mg

本产品仅用于科研

TEL: 010-82422342 www.biorigin.Ltd

注：以每次使用 100 μL 染色工作液，染色工作液浓度 5 μM 计算。

注意事项

1. AM 酯基易吸潮，故请确保从冰箱拿出后恢复至室温再开封，Fluo-8 AM 微量不易观察，恢复室温后瞬时离心确保粉末离心至管底。
2. Fluo-8 AM 遇水极易分解，如果不能一次用完，建议将储液小量分装保存。
3. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光。
4. 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

操作步骤（仅供参考）

1. 储液准备

将 Fluo-8 AM 从冰箱取出，恢复至室温后，瞬时离心至管底。用无水 DMSO 制备 2 至 5 mM 的 Fluo-8 AM 储备液。举例：制备 5 mM 储液需要往 1 mg 管子中加入 191 μL 无水 DMSO。

注：配置好的储液建议分装保存放置 -20°C ，且最好用封口膜缠紧管盖。

2. 工作液制备

1) 用 PBS 或 HBSS 稀释 Fluo-8 AM 储液制备 2-20 μM 的 Fluo-8 AM 工作液。对于大多数细胞系，建议使用终浓度为 4-5 μM 的 Fluo-8 AM 工作液。

注：不同细胞所需上样浓度不一致，建议正式实验前做最佳浓度摸索。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) （可选）如果 Fluo-8 AM 进入细胞的效果不好，可向 Fluo-8 AM 溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液，防止 Fluo-8 AM 在缓冲液中聚集并促进 Fluo-8 AM 进入细胞，Pluronic F-127 终浓度控制在 0.04~0.05%。

注：

- ① 20% (w/v) 的 Pluronic F-127 DMSO 母液配制：100 mg Pluronic F-127 中加入 0.5 mL DMSO，配制成 20% (w/v) 的 DMSO 母液。溶解需要在 $40\sim 50^{\circ}\text{C}$ 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；
- ② 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，不建议将其加入储液中；
- ③ 如果您的细胞含有有机阴离子转运蛋白，则可以将丙磺舒（1-2 mM）添加到染料工作溶液中（最

终浓度为 0.5-1 mM)，以减少脱酯指示剂的泄漏。

3. 染色步骤

- 1) 取出预培养的细胞，除去培养基。
- 2) 将 Fluo-8 AM 工作液加入细胞中，加入量以覆盖细胞为准。在 37°C 或室温下培养 30~60 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 40 min，观察荧光效果。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) 去除染色工作液，并用 HHBS 或其他生理缓冲液替换，去除多余探针。

4. 荧光检测

用适当的仪器如激光共聚焦、流式细胞仪、荧光酶标仪根据波长 $Ex/Em = 495/516\text{ nm}$ 来进行检测。

FAQ

1. 问：Fluo-8 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 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。