

产品名称: Fluo-20 AM 钙离子荧光探针 (绿色)

产品货号: RA20088

基本信息

中文名称	Fluo-20 AM 钙离子荧光探针 (绿色)
英文名称	Fluo-20 AM Calcium Probe(Green)
产品规格	1mg
存储条件	-20℃, 避光保存
运输条件	冰袋运输
有效期	12 个月

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-20 AM 染料的出现便可有效解决上述问题, 它在保持与 Fluo-3 AM、Fluo-4 AM 和 Fluo-8 AM 相似且便于使用的光谱波长 ($\text{Ex/Em} = 495/516 \text{ nm}$) 的同时, 显著改善了细胞负载情况以及钙反应效果。例如, Fluo-20 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-20 AM 亮度是 Fluo-4 AM 的 4 倍、Fluo-3 AM 的 8 倍、Fluo-8 AM 的 2 倍。轻松检测微弱钙离子浓度变化, 减少背景干扰, 尤其适合原代细胞、低钙响应细胞等信号较弱的场景。Fluo-20 AM 是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-20, 从而滞留在胞内以发挥相应生理功能。综上所述, Fluo-20 AM 是 Fluo-3 AM、Fluo-4 AM 和 Fluo-8 AM 的完美替代品。

应用范围

钙离子检测

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 的固体粉末

Ex: 495 nm

Em: 516 nm

产品特点

1.相较于 Fluo-3 AM、Fluo-4 AM、Fluo-8 AM

1) 灵活的加载条件: Fluo-20 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

产品名称: Fluo-20 AM 钙离子荧光探针 (绿色)

产品货号: RA20088

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, 尤其适合原代细胞、低钙响应细胞等信号较弱的场景;

2) 卓越的荧光信号强度与灵敏度: Fluo-20 AM 荧光强度表现优异, 其荧光强度是 Fluo-4 AM 的 4 倍、Fluo-3 AM 的 8 倍。在同激发条件 (Ex/Em=495/516 nm) 下, 与国产 Fluo-8 AM 相比提升约 100%, 相较 AAT Fluo-8 AM 高出 40%。该特性使其可检测更微弱的钙离子浓度变化, 尤其适用于钙离子动态范围小或信号较弱的细胞检测。

3) 突破性信号增强: 优化荧光结构, 厚组织深层或低探针浓度下, 仍保持高信噪比, 解决传统探针信号衰减难题。

4) 更低的细胞毒性风险: 同等检测效果下可使用更低探针浓度, 从 4 μ M 起始摸索, 减少染料聚集和跨膜运输负担, 显著提升活细胞长期监测的存活率。

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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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 Ca²⁺ 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。

产品组分

组 分	规 格
Fluo-20 AM Calcium Probe	1 mg

注: 以每次使用 100 μ L 染色工作液, 染色工作液浓度 5 μ M 计算。

实验步骤

1. 储液准备

将 Fluo-20 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-20 AM 储备液。举例: 制备 5 mM 储液需要往 1 mg 管子中加入 191 μ L 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-20 AM 储液制备 2-20 μ M 的 Fluo-20 AM 工作液。对于大多数细胞系, 建议

产品名称: Fluo-20 AM 钙离子荧光探针 (绿色)

产品货号: RA20088

使用终浓度为 4-5 μM 的 Fluo-20 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-20 AM 进入细胞的效果不好, 可向 Fluo-20 AM 溶液中加入适量 20% Pluronic F-127 溶液, 防止 Fluo-20 AM 在缓冲液中聚集并促进 Fluo-20 AM 进入细胞, Pluronic F-127 终浓度控制在 0.04~0.05%。

注:

a. 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 40~50 $^{\circ}\text{C}$ 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;

b. Pluronic F-127 可降低 Fluo-20 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;

c. 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-20 AM 工作液加入细胞中, 加入量以覆盖细胞为准。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 nm 来进行检测。

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-20 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-20 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, 实验操作时请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。

4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

5. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗。