

# Fluo-4, AM

**中文名:** 钙荧光探针Fluo-4, AM,

**英文名:** 1-[2-Amino-5-(2,7-difluoro-6-hydroxy-3-oxo-9-xanthenyl)phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid, pentaacetoxymethyl ester

**CAS#:** 273221-67-3;

**分子式:** C<sub>51</sub>H<sub>50</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>23</sub>

**分子量:** 1096.94

**外观:** 橙红色粉末;

**纯度:** ≥90% (HPLC)

Fluo-4 是一种将 Fluo-3 结构中的 C1 替换成 F 的钙荧光探针。由于将 C1 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 强一倍。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，最大激发波长为 494nm，最大发射波长为 516nm。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。

**使用说明:** for Human T cells

## 1. 试剂

2 mM 的 Fluo-4, AM/DMSO (将 1mg Fluo-4, AM 溶于 442μL DMSO) Pluronic F127;  
Hanks balanced salt solution (HBSS)  
HEPES buffer saline (10mM HEPES, 1mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 137mM NaCl, 5mM KCl, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5mM MgCl<sub>2</sub>, 5mM glucose, 0.1% BSA, pH 7.4)

## 2. 操作

- ①向 Fluo-4, AM/DMSO 溶液中加入 16.5mg Pluronic F127, Pluronic F127 可以防止 Fluo-4, AM 在 HBSS 中聚合并能帮助其进入细胞。
- ②用 HBSS 稀释 Fluo-4, AM 溶液，制备 4μM 的 Fluo-4, AM 工作液。
- ③将 Fluo-4, AM 工作液加入细胞，在 37°C 培养 20 分钟。
- ④加入 5 倍体积的含有 1% 胎牛血清的 HBSS，再继续培养 40 分钟。
- ⑤用 HEPES buffer saline 洗涤细胞 3 次，然后用 HEPES buffer saline 使细胞重悬浮，制成 1×10<sup>5</sup> cells/mL 的溶液。
- ⑥37°C 下培养 10 分钟，然后用该细胞进行荧光钙离子检测。激发波长 494nm，发射波长 516nm。

\*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。以上方法仅供参考。

**保存条件:** -20°C 避光保存，有效期一年。