产 品 说 明 书

产品名称：Fluo-3, AM ester（钙离子荧光探针）

产品货号：BN13005-1 mg、BN13015-50 μL

产品规格：1 mg、50 μL（2 mM）

产品参数

外观：可溶于DMSO的橙红色固体（F3005）

贮存条件：-20℃ 避光保存

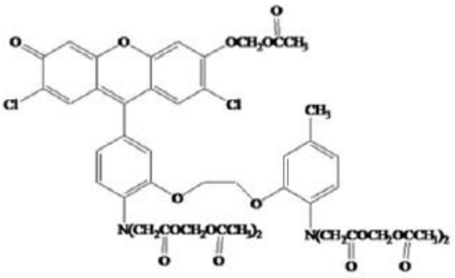
保质期：见外包装

CAS号：121714-22-5

分子式：$C_{51}H_{50}Cl_2N_2O_{23}$

分子量：1129.9

分子结构图：



产品介绍

Fluo-3, AM ester是一种可以穿透细胞膜的荧光染料。Fluo-3, AM ester 进入细胞后可以被细胞内源性酯酶剪切形成Fluo-3，从而被滞留在细胞内。Fluo-3可以和钙离子结合，结合钙离子后可以产生较强的荧光，最大激发波长为506 nm，最大发射波长为526 nm。

实验步骤

1. 用无水DMSO溶解 Fluo-3, AM配制成2 - 5 mM的储存液，或将溶液形式的Fluo-3, AM储存液取出于室温回温。

2. 用PBS或HBSS等缓冲液稀释Fluo-3, AM 溶液，制备4 μM的Fluo-3, AM 工作液。

注：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。

3.（可选）如果Fluo-3进入细胞的效果不好，可向Fluo-3, AM/DMSO 溶液中加入适量20% Pluronic F127溶液，防止Fluo-3, AM在缓冲液中聚合并促进其进入细胞，Pluronic F127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。溶解过程需要在40 - 50℃加热20 - 30 min。溶液室温保存，不要冷藏。如果有结晶析出，可以重新加热后溶解，不影响使用。

(2) Pluronic F127可降低Fluo-3, AM的稳定性，因此只建议在配制工作液时加入，不建议将其加入储存液长期保存。

4. 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。

5. 将Fluo-3, AM 工作液加入细胞，在37℃培养10-60 min。

注：如果首次实验不能确定孵育温度和时间，建议先尝试37℃孵育20分钟，观察荧光效果。如果细胞死亡较多，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。

6. 去除Fluo-3, AM 工作液，用PBS或HBSS等缓冲液洗涤细胞3次，然后用PBS或HBSS等缓冲液重悬细胞，制成1×10^5 cells/mL的溶液。

7. 37℃下培养10 min，以确保 AM 体在细胞内的完全去酯化作用。

8. 进行荧光钙离子检测（激发波长506 nm，发射波长526 nm ）。

注意事项

1. 如果使用含有血清的培养基，血清中的酯酶会分解AM体，从而降低Fluo-3, AM 进入细胞的效果。另外，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，应尽量去除培养基残留。

2. 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。

3. 本Fluo-3, 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再开封。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. Fluo-3, 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。