

钙黄绿素-AM 溶液

C1456514

储存温度 -20°C避光储存，避免反复冻融。
运输条件 冰袋运输，收到后请及时放到储存条件下储存。

产品介绍

Calcein AM, 中文名钙黄绿素乙酰氧基甲酯, 又称为钙黄绿素-AM, 是一种可渗透进入细胞、常用于测定真核细胞活力或线粒体通透性转换孔 (Mitochondrial Permeability Transition Pore, MPTP) 的绿色荧光探针。Calcein AM 近年来被广泛应用到细胞活性分析实验中。

Calcein AM 是在 Calcein (钙黄绿素) 的基础上增加了乙酰氧基甲酯(AM)基团, 加强了疏水性, 因此能够轻易穿透活细胞膜。Calcein AM 本身并无荧光, 进入细胞后被细胞中内源性酯酶水解生成具有强负电荷的不能通透细胞膜的极性分子钙黄绿素(Calcein), 从而被滞留在细胞内, 而 Calcein 可发出强绿色荧光 (Ex/Em = 494/517nm)。与其它同类探针相比, 由于 Calcein AM 的细胞毒性非常低, 几乎不会影响细胞功能如细胞增殖或淋巴细胞的趋化等, 而且对 pH 值敏感性低, 所以 Calcein AM 是目前染活细胞的最理想荧光探针之一。

由于死细胞缺乏酯酶, Calcein AM 仅用于对活细胞的活力测试和短期标记, 而核酸红色荧光染料碘化丙啶(Propidium Iodide, PI) 由于不能穿透活细胞的细胞膜而只能染色细胞膜完整性被破坏的死细胞, 所以 Calcein AM 常常与碘化丙啶(PI)联合使用, 对活细胞和死细胞同时进行双重荧光染色。

产品信息

Product Name	Specifications	Concentration	Storage Condition
Calcein AM solution	100 μ L	2 mM in DMSO	-20°C. Store in the dark. Avoid repeated freezing and thawing

使用方法

1. 工作液的配制

用合适的缓冲液, 如无血清培养液、HBSS 或 PBS 按照 1:1000 稀释本产品, 例如取 1 μ L 染色液加入到 1 mL 的无血清培养基中, 即得到 1 mL 染色工作液。

注: Calcein AM 的常用终浓度为 0.1-5 μ M, 可以根据细胞类型和实验实际情况对 Calcein AM 的最终浓度进行适当调整。

2. 染色

a. 对于贴壁细胞:

(a) 将细胞接种于培养皿、多孔细胞培养板或者细胞爬片上, 按实验设计对细胞进行一定处理。轻轻吸除孔板中的培养液, PBS 洗涤约 10 秒, 吸除 PBS。

(b) 加入适当体积的 Calcein AM 染色工作液, 轻轻晃动使染料均匀覆盖所有细胞。

注: 对于在六孔板中培养、汇合度超过 80% 的贴壁细胞, 建议按 1mL/well 加入染色工作液, 也可根据具体的实验体系进行优化。

(c) 37°C 孵育细胞 10-45 分钟, 不同的细胞最佳孵育时间不同。可以考虑以 10 分钟作为初始孵育时间, 根据具体的实验情况进行适当优化得到更加理想的检测效果。

(d) 吸除染色液, 用 PBS 清洗 2-3 次, 然后加入无血清细胞培养液后即可在荧光显微镜下观察, 在 Ex/Em = 494/517nm 下观察绿色荧光, 也可以在染色结束后进行流式细胞仪分析检测或使用荧光酶标仪检测细胞的荧光。

b. 对于悬浮细胞:

(a) 细胞按实验设计进行一定处理后, 计数。取适当细胞, 500×g 室温离心 5 分钟, 轻轻吸除培养基后加适量 PBS 重悬, 500×g 室温离心 5 分钟, 去除 PBS。

(b) 加适量 Calcein AM 染色工作液, 使细胞密度约为 10^6 个/mL。

(c) 37°C 孵育细胞 10-45 分钟, 不同的细胞最佳孵育时间不同。可以考虑以 10 分钟作为初始孵育时间, 根据具体的实验情况进行适当优化得到更加理想的检测效果。

(d) 直接滴加于载玻片上, 加盖盖玻片, 置于显微镜下观察, 在 Ex/Em = 494/517nm 下观察绿色荧光, 也可以在染色结束后进行流式细胞仪分析检测或使用荧光酶标仪检测细胞的荧光。

注: 若背景影响严重, 可以离心去除染液后使用 PBS 清洗 1-2 遍, 再置于显微镜下观察。

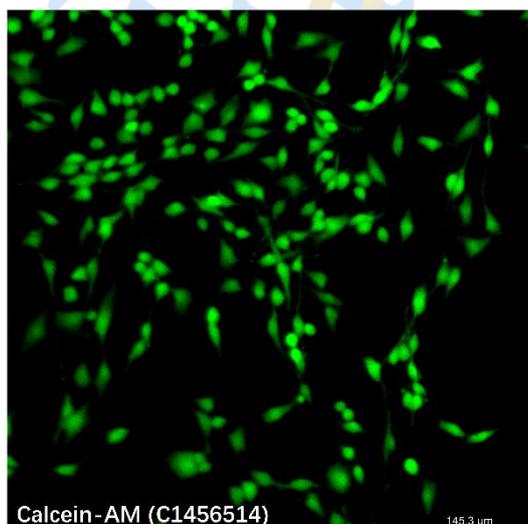


图 1. 本产品作用于 HeLa 细胞的染色效果图



注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套。
2. 荧光染料存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。

