

Calcein AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色) 超纯级

产品信息:

产品名称: Calcein AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色) 超纯级

规格:

目录号	产品名称	规格
X11938	Calcein AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色) 超纯级	50µg
X13150	Calcein AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色) 超纯级	5x50µg
X13151	Calcein AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色) 超纯级	1mg

产品说明:

CAS 号	148504-34-1
分子式	$C_{46}H_{46}N_2O_{23}$
分子量	994.86g/mol
纯度	≥95%(HPLC)
Ex/ Em (nm)	490/515
外观	白色或浅黄色结晶粉末
运输	冰袋运输
保存	-20℃干燥保存, 1 年有效

产品描述:

Calcein-AM 是一种对活细胞进行荧光标记的细胞染色试剂, 发绿色荧光 (Ex=490 nm, Em=515 nm)。因其在传统的 Calcein (钙黄绿素) 基础上引入乙酰甲氧基甲酯 (AM) 基团, 增加了疏水性, 使其能够轻易穿透活细胞膜。一旦进入细胞后, Calcein-AM (本身不发荧光) 被细胞内的酯酶剪切形成膜非渗透性的极性分子 Calcein, 从而被滞留在细胞内并发出强绿色荧光。与其它同类试剂 (如 BCECF-AM 和 CFDA) 相比, 由于 Calcein, AM 细胞毒性极低, 是最适用于活细胞染色的荧光探针, 而且不会抑制任何的细胞功能, 如增殖和淋巴球的趋化性。

由于死细胞缺乏酯酶, Calcein, AM 仅用于对活细胞的细胞生存能力测试和短期标记。作为核染色染料的碘化丙啶不能穿过活细胞的细胞膜, 它穿过死细胞膜的无序区域而到达细胞核, 并嵌入细胞的 DNA 双螺旋从而产生红色荧光(激发: 535 nm, 发射: 617 nm), 因此 PI 仅对死细胞染色。由于 Calcein 和 PI-DNA 都可被 490 nm 激发, 因此可用荧光显微镜同时观察活细胞和死细胞。而用 545 nm 激发, 仅可观察到死细胞。根据以上特点, Calcein, AM 和 PI 经常被结合用来作为活细胞和死细胞的双重染色。由于不同细胞系的最佳染色条件不同, 我们建议个别确定 Calcein, AM 和 PI 的合适浓度。

本品为粉末形式提供的 Calcein-AM, 超纯级别 (≥95%), 可与碘化丙啶 (PI) 联合使用, 用于活细胞和死细胞的同时检测。或者直接购买翔圣提供的 Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒。

使用方法:

1. 储存液的配制

本品是以粉末形式提供的, 根据工作液的浓度将其配制成 1000× 的储存液, 储存液配制范围可为 1 ~ 50 mM。例如使用的工作液为 5 μM, 那么可配制 5 mM 的储存液, 也就是向 50 μg Calcein, AM (Mw: 994.86) 内加入 10 μl 细胞培养级别的 DMSO 即可得到所需浓度的储存液。

2. 染色步骤

对于大部分细胞, 钙黄绿素 Calcein, AM 的工作液浓度为 2-5 μM。由于不同细胞系的最佳染色条件不同, 初次实验建议做梯度实验, 以确定 Calcein-AM 的最适浓度。梯度筛选的原则为使用最低的探针浓度得到最好的荧光结果。

1) 使用时, 取一管适量的 Calcein, AM 储存液 (1000×), 用 PBS (或 Hanks 和 HEPES) 缓冲液将其稀释成相应浓度的染色工作液。

注: 有时候可添加一定量的非离子表面活性剂如 Pluronic F127 到 Calcein AM 储存液内来增强其水溶性。制备染色工作液前, 取一管需要用的 Calcein AM 储存液内加入等体积的 20% Pluronic F127, 使 Pluronic F127 的终浓度为 0.02%。含 Pluronic F127 的 Calcein AM 溶液不可长期保存, 现配现用。

2) 对于贴壁细胞, 先用胰酶-EDTA 消化细胞, 离心收集细胞 (1000 rpm, 3 min)。对于悬浮细胞, 直接离心收集细胞。

3) 去上清, 用 PBS (或者其他缓冲液) 充分清洗细胞 2~3 次, 以充分去除残留的酯酶活性。

4) 用 1/10 细胞培养基体积的 Calcein, AM 染色工作液重悬细胞, 37°C 培养细胞 15 ~ 30 分钟。

注: 如果细胞本身含有有机阴离子转运体, 需加入丙磺舒 (probenecid, 1-2.5 mM) 或者苯磺唑酮 (sulfapyrazone, 0.1-0.25 mM) 到孵育体系内以降低去酯化染料 calcein 泄露到胞外。

5) 用 PBS (或者其他缓冲液) 洗涤细胞两次去除多余的染料。

注: 如有必要, 使用含有阴离子转运抑制剂的缓冲液来进行细胞清洗】

6) 用含 490 nm 激发波长, 515 nm 发射波长的滤光片的荧光显微镜观察细胞。

注意事项:

1) 对于微量试剂, 开封前, 请稍微离心一下, 以保证粉末落入管底。

2) 由于 Calcein-AM 对湿度非常敏感, 本粉末保存的过程中一定要保持干燥。对于配制好的 Calcein-AM 储存液需要分装冻存, 且必须紧紧密封盖子, 干燥保存。Calcein-AM 工作液必须现配现用。

3) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。