

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01161

产品介绍

钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 是一种对活细胞进行绿色荧光(Ex: 490 nm, Em: 515 nm)标记的细胞染色试剂。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。钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 本身不发荧光, 进入细胞后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。由于死细胞缺乏酯酶, 仅用于对活细胞的细胞生存能力测试和短期标记。与其它同类试剂 (如 BCECF-AM 和 CFDA) 相比 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 细胞毒性极低, 不会抑制任何的细胞功能, 如细胞增殖和淋巴球的趋化性等, 是最适合用于活细胞染色的荧光探针。

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 (Ex: 535 nm, Em: 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。

应用范围

活细胞染色、细胞成像、细胞增殖和功能、细胞示踪、细胞计数

储运条件

-20 °C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

稳定性强: 荧光亮度强, 发光时间久, 不易淬灭;

使用方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

产品参数

外观: 可溶于 DMSO 的灰白色固体

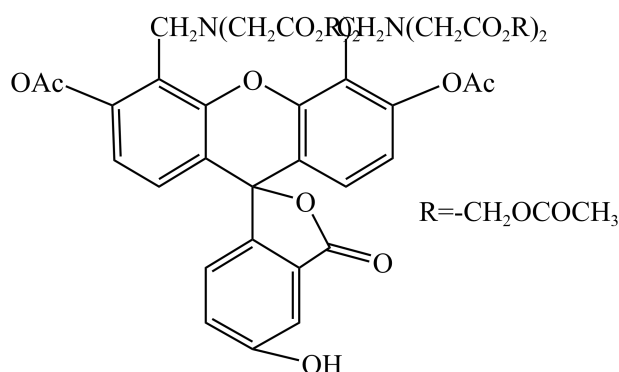
CAS 号: 148504-34-1

Ex/Em: 494/517 nm (pH = 8)

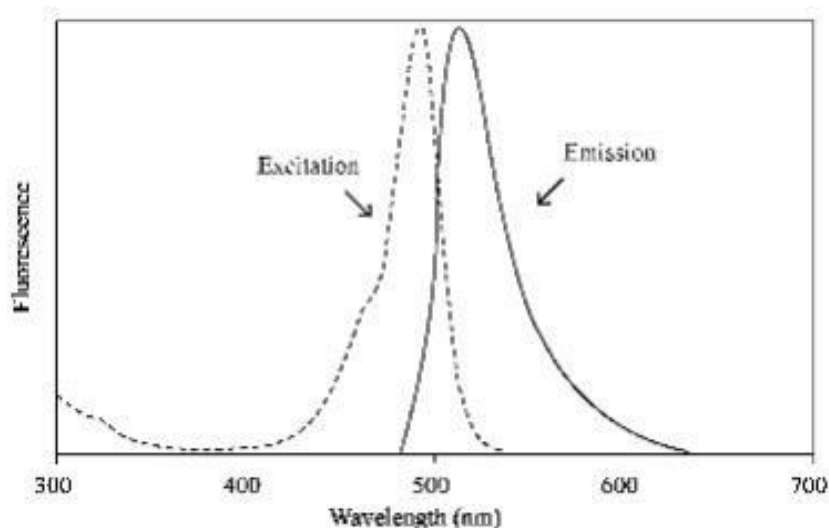
分子式: C₄₆H₄₆N₂O₂₃

分子量: 994.9

分子结构图:



光谱图:



*注意事项

1. 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 的酯键遇到湿气会分解, 使用后请在 -20°C 下密闭冷冻保存, 防止水分进入。
2. 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 储备液稀释后请及时使用, 尽量现配现用。
3. 由于 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 在 PBS 等水溶液中不稳定, 配制成工作液后需尽快使用。
4. 培养液中的血清和酚红对 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 的染色有一定的影响, 建议在加入 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 工作液前充分洗涤细胞。
5. 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 标记的细胞, 荧光均匀, 而且对短期细胞迁移示踪效果非常好, 但荧光的持续时间与细胞类型、培养条件等因素相关, 一般在几小时之内, 而且有时也会被某些类型细胞迅速外排。
6. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作方法

1. 用 DMSO 制备 1 mM 的 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 溶液, 并用 PBS 将其稀释制成 $1\sim 50\ \mu\text{M}$ 的 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 溶液。

注:不同的细胞适用的 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 浓度不同, $2\ \mu\text{M}$ 的 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 适用的细胞有 NIH3T3、PtK2、HeLa、MDCK 等。

2. 染色 HeLa 等贴壁细胞时, 先用 Trypsin-EDTA 等消化细胞, 制备成细胞悬液。
3. 将细胞悬液离心 3 min (1000 rpm)。
4. 去除上清液, 加入 PBS 缓冲液, 细胞数量调整至 $105\sim 106/\text{mL}$, 再用移液器充分混匀。

注: 由于培养基中的血清等含有酯酶, 会分解 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色), 导致空白背景数值上升, 所以需要离心数次, 用 PBS 洗涤数次直到完全洗净。

5. 在 $200\ \mu\text{L}$ 细胞悬液中加入 $50\ \mu\text{L}$ 稀释后的 钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 溶液, 在 37°C 下孵育 15 min。
6. 在盖玻片上滴加适量的染色的细胞溶液。用 490 nm 激发波长, 515 nm 发射波长滤光片的荧光显微镜观察细胞。

注: 如果钙黄绿素 AM (Calcein AM, 绿色) 很难进入细胞, 可以使用表面活性剂处理, 如 Pluronic F127。