



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

产品简介

Calcein, AM, 中文名钙黄绿素乙酰甲酯, CAS NO: 148504-34-1, 一种具细胞膜渗透性的活细胞荧光染料, 呈绿色荧光 (Ex/Em= 490nm/515nm)。AM 基团的存在不仅加强疏水性, 使其能轻易穿透活细胞膜。而且封闭结合钙离子的分子部分, 本身不发光。一旦进入细胞后, 被细胞内酯酶水解为钙黄绿素 (calcein), 能与胞内钙离子结合, 产生强烈的绿色荧光。因不具有细胞膜渗透性, 从而被保留在胞内。与其它活细胞染料 (如 BCECF-AM, CFDA) 相比, Calcein, AM 最适合用于活细胞染色探针, 因细胞毒性很低, 而且不会抑制任何细胞功能如增殖或淋巴细胞趋化性。另外, 使用 Calcein, AM 活性检测的实验结果十分可信, 与标准的 ⁵¹Cr 释放法所得结果一致。

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) (Cat No FS1202) 联合使用, 用于活细胞和死细胞的同时检测。或者直接购买 Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒 (Cat No. FS1161)。

产品组成

名称 编号	FS1160	FS1160	Storage
Calcein, AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色)	50ug	250ug	-20℃ 干燥
使用说明书	1 份		

运输与保存方法

冰袋运输: -20℃ 避光干燥保存, 1 年有效。

产品性质

CAS : 148504-34-1

同义名: 钙黄绿素乙酰甲酯; 3'-O-乙酰胺-2',7'-二(羧乙基)-4 或 5-羧基荧光素, 二乙酰甲酯;

分子式: C₄₆H₄₆N₂O₂₃

分子量: 994.86

纯度: ≥95% (HPLC)

外观: 白色或浅黄色结晶粉末

溶解性: 溶于 DMSO (1~5mM)



操作步骤

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 (CAS NO.FS0306) 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 (Cat No. FS0432) 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℃ 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) 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。对于微量试剂, 开封前, 请稍微离心一下, 以保证粉末落入管底。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。

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) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品

产品货号	产品名称	规格
FS0306	Dimethyl Sulfoxide (DMSO), 二甲基亚砜 DMSO (细胞培养级)	100ml
FS0432	Pluronic® F-127, Cell Culture Tested 细胞培养级	1g
FSH055	1×PBS 缓冲液 (pH7.2-7.4)	500ml
FS0498	Probenecid 丙磺舒	5g