

Calcein, AM, Ultrapure Grade 钙黄绿素, 超纯级

产品信息

产品名称	货号	规格
Calcein, AM, Ultrapure Grade 钙黄绿素, 超纯级	40719ES50	1×50 μg
	40719ES60	2×50 μg
	40719ES74	20×50 μg
	40719ES80	1 mg

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，是最适合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。

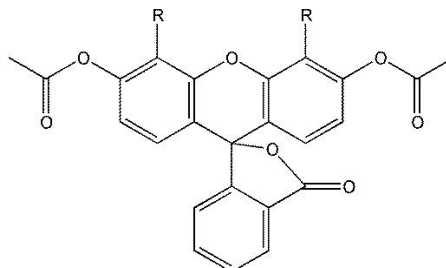
由于死细胞缺乏酯酶，Calcein, AM 仅用于对活细胞的细胞生存能力测试和短期标记。作为核染色染料的碘化丙啶不能穿过活细胞的细胞膜，它穿过死细胞膜的无序区域而到达细胞核，并嵌入细胞的 DNA 双螺旋从而产生红色荧光（激发：535 nm，发射：617 nm），因此 PI 仅对死细胞染色。由于 Calcein 和 PI-DNA 都可被 490 nm 激发，因此可用荧光显微镜同时观察活细胞和死细胞。而用 545 nm 激发，仅可观察到死细胞。根据以上特点，Calcein, AM 和 PI 经常被结合用来作为活细胞和死细胞的双重染色。由于不同细胞系的最佳染色条件不同，我们建议个别确定 Calcein, 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）（Cat No. 40710ES03）联合使用，用于活细胞和死细胞的同时检测。或者直接购买买圣提供的 Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒（Cat No. 40747ES76）。

产品性质

中文名称 (Chinese synonym)	3'-O-乙酰胺-2',7'-二(羧乙基)-4 或 5-羧基荧光素，二乙酰甲酯；钙黄绿素乙酰胺酯；
英文名称 (English synonym)	3',6'-Di(O-acetyl)-4',5'-bis[N,N-bis(carboxymethyl)aminomethyl]fluorescein, tetraacetoxymethyl ester
CAS 号 (CAS NO)	148504-34-1
分子式 (Formula)	C ₄₆ H ₄₆ N ₂ O ₂₃
分子量 (Mol. Wt.)	994.86
纯度 (Purity)	≥95% (HPLC)
Ex/ Em (nm)	490/515

结构式



运输与保存方法

冰袋 (wet ice) 运输。-20℃干燥保存，避免直接暴露于强光下，有效期一年。

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。
- 4) 本产品仅作科研用途!

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 (CAS NO. 60313ES60) 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. 60318ES60) 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, 1-2.5mM) 或者苯磺唑酮 (sulfipyrazone, 0.1-0.25mM) 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。

相关产品

40719ES60	Calcein, AM, Ultrapure Grade 钙黄绿素, 超纯级	2×50 μg
40747ES76	Calcein-AM/PI Double Stain Kit Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒	500 T
40747ES80	Calcein-AM/PI Double Stain Kit Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒	1000 T
60318ES60	Pluronic® F-127	100 mg
60313ES60	DMSO 二甲基亚砜, 细胞培养级	100 mL