

Calcein Blue, AM 钙黄绿素蓝 (蓝色)

产品编号	产品名称	包装规格
NBS2018-1mg	Calcein Blue, AM 钙黄绿素蓝 (蓝色)	1mg

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最受欢迎的活细胞荧光染料, 用来标记和监测活细胞功能, 呈绿色荧光 (Ex/Em=490nm/515nm)。然而, Calcein, AM 单一颜色使其不能将其用在多重标记实验, 比如, 其无法和 GFP 转染细胞联合使用, 因光谱一致。为了解决这一应用缺陷, 我司特别开发出 Calcein Blue, AM、Calcein Red, AM 等, 实现联合 Calcein, AM 对活细胞的多重标记和功能分析。

Calcein Blue, AM 本身仅呈微弱荧光 (Ex/Em~322/435nm), 具有细胞膜渗透性。一旦进入细胞后, 被细胞内酯酶水解为钙黄绿素蓝 (Calcein Blue), 探针极性增强并能保留在细胞内数小时, 此时荧光强度增强且荧光光谱迁移到更长波长 (Ex/Em~360/445nm), 光谱特征类似于 DAPI、Hoechst 33342 (CAT: NBS8032 和 CAT: NBS8033) 或 Hoechst 33258 (CAT: NBS8034 和 CAT: NBS8035)。

产品特性:

- 1) CAS NO: 168482-84-6
- 2) 化学名: N-[2-[(acetyloxy)methoxy]-2-oxoethyl]-N-[(7-hydroxy-4-methyl-2-oxo-2H-1-benzopyran-8-yl) methyl]-glycine, (acetyloxy)methyl ester
- 3) 同义名: Calcein Blue Acetoxymethyl ester 钙黄绿素蓝乙酰氧基甲酯;
- 4) 分子式: C₂₁H₂₃NO₁₁
- 5) 分子量: 465.41
- 6) 纯度: ≥90%
- 7) Ex/Em: 360/445nm
- 8) 溶解性: 溶于 DMSO (1~5mM)

保存条件:

-20°C避光干燥保存, 至少一年有效。

产品使用:

A, 储存液制备

储存液配制范围可为 1 ~ 5 mM, 具体根据工作浓度来决定, 建议提前配制成 1000× 储存液。若使用的工作液为 5μM, 那么可配制 5mM 的储存液, 即往 1mg Calcein Blue, AM (Mw: 465.41) 内加入 430μl 细胞培养级别的 DMSO, 充分溶解, 混匀。储存液根据单次用量分装 -20°C 保存, 避免反复冻融, 数月稳定 (不要超过 6 个月)。

B, 20% Pluronic F-127 制备【可选】

称取 100mg Pluronic F-127 (CAT NO. NBS2009) 粉末中加入 500μl DMSO, 配制成 20%(w/v) DMSO 母液。溶解过程需要在 40-50°C 加热 20-30min。溶液室温保存, 不用冷藏。如有结晶析出, 可以重新加热后溶解, 不影响使用。

C, 染色步骤

大多数实验体系中 Calcein Blue, AM 的工作浓度为 2-5μM。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 Blue, AM 的最佳工作浓度, 以最低的探针浓度得到最好的荧光结果为筛选原则。

1) 取一管适量分装的储存液 (1000×) 置于室温, 至少回温 20min, 低速离心后, 用合适的缓冲液如 PBS, HBSS-HEPES 稀释到 1× 染色工作液。

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

2) 对于贴壁细胞, 先用胰酶-EDTA 或 Accutase 消化细胞, 离心收集细胞 (1000 rpm, 3min)。对于悬浮细胞, 直接离心收集细胞。【注意】: 贴壁细胞也可进行原位染色。

3) 去上清, 用 PBS (或者其他缓冲液) 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 Blue, AM 染色工作液重悬细胞, 37°C 孵育 20min ~ 1h。

【注意】: a) 若细胞自身含有机阴离子转运体, 需加入丙磺舒 (CAT NO. NBS2007)

(1-2.5mM) 或者苯磺唑酮 (0.1-0.25mM) 到孵育体系内以降低去酯化的 Calcein Blue 泄露到胞外;

b) 降低探针加载温度, 可能会减少探针区室化现象。

5) 用 PBS (或者其他缓冲液) 洗涤细胞两次去除多余染料。

【注意】: 如有必要, 使用含有机阴离子转运抑制剂的缓冲液来进行细胞清洗。

6) 用含合适滤光片 (Ex/Em=360/445nm) 的仪器进行检测。

注意事项:

1. 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。
2. 乙酰氧基甲基酯 (AM) 易吸潮, 冰箱取出后请在干燥的环境放至室温后再开封。由于试剂微量, 开封前请将其短暂离心, 以保证粉末落入管底。
3. Calcein Blue, AM 对湿度非常敏感, 粉末保存一定要保持干燥。Calcein Blue, AM 储存液需要分装避光冻存, 且必须紧紧密封盖子, 干燥保存。Calcein Blue, AM 工作液必须现配现用。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

产品订购:

产品编号	产品名称	规格
NBS2014-50ug	Calcein, AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色, 超纯级别)	50ug
NBS2015-100T	活细胞/死细胞双染色试剂盒 Calcein-AM/PI Live/Dead Cell Double Stain Kit	100T
NBS2016-1mg	Calcein Red, AM 钙黄绿素红 (红色)	1mg
NBS2017-200mg	Calcein (mixture of isomers)钙黄绿素 (异构体混合物)	200mg
NBS2018-1mg	Calcein Blue, AM 钙黄绿素蓝 (蓝色)	1mg
NBS2019-1mg	Calcein Deep Red AM 钙黄绿素深红乙酰氧基甲酯	1mg
NBS2020-25mg	Calcein Blue 钙黄绿素蓝	25mg
NBS2007-1g	Probenecid 丙磺舒	1g
NBS2008-154mg	Probenecid Sodium, Water Soluble 丙磺舒钠 (水溶性)	2x77g