

Calcein Deep Red AM 钙黄绿素深红乙酰氧基甲酯

产品编号	产品名称	包装规格
NBS2019-1mg	Calcein Deep Red AM 钙黄绿素深红乙酰氧基甲酯	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 Red (CAT NO.: NBS2016), Calcein Deep Red (CAT NO.: NBS2019) 这些衍生物, 能够联合 GFP 或 FITC 等荧光素实现对活细胞的多重标记和功能分析。

钙黄绿素深红乙酰氧基甲酯 (Calcein Deep Red AM) 自身无荧光, 具有细胞膜渗透性。能够轻易进入活细胞, 被细胞内酯酶水解生成钙黄绿素深红 (Calcein Deep Red), 产生强烈的深红色荧光 (Ex/Em=643/663nm), 用标准的 Cy5 滤片设置检测。

产品特性:

- 1) 同义名: Calcein Deep Red AM; Calcein Deep Red AM Ester; 钙黄绿素乙酰氧基甲酯 (深红色), 钙黄绿素深红乙酰氧基甲酯;
- 2) 分子量: ~600
- 3) 纯度: $\geq 95\%$ (HPLC)
- 4) Ex/Em: 643/663nm
- 5) 溶解性: 溶于 DMSO (1~5mM)

保存条件:

-20°C 干燥保存, 避免强光直射, 有效期一年。

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!

应用实例:

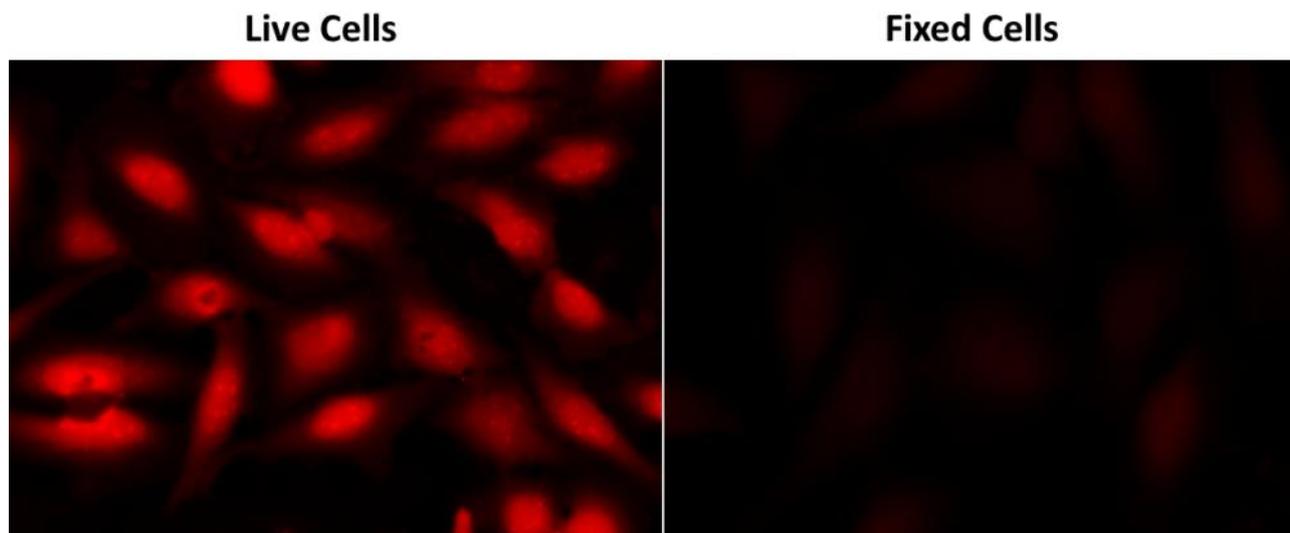


Fig 1. HeLa 细胞 (活细胞+固定细胞) 经 Calcein Deep Red AM (CAT NO.: NBS2019) 染色的图片。

产品使用:

1、储存液制备

储存液配制范围可为 2~5 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 5 μ M, 那么可配制 5mM 的储存液, 即往 1mg Calcein Deep RedAM (Mw ~600) 内加入 333 μ l 细胞培养级别的 DMSO 即可。储存液需要根据单次用量分装, -20 $^{\circ}$ C 避光干燥保存, 一定要避免受潮, 此种情况下可稳定保存数月。

2、染色工作液制备

于正式实验前, 或溶解 Calcein Deep RedAM 粉末配制储存液, 或取一管已配制好的 Calcein Deep RedAM 储存液并回至室温使充分融化。用添加有 2.5mM 丙磺舒 (CAT NO. NBS2007) 的 HHBS (Hanks with 20mM Hepes buffer) 或其他适当的缓冲液 (pH 7.0) 稀释储存液到 5~10 μ M 工作浓度。

【注 1: Calcein Deep Red 染色工作液很不稳定, 需要使用前配制。】

【注 2: 许多细胞都含有机阴离子转运体。因此高度推荐染色工作液内添加 2.5mM 丙磺舒 (有机阴离子转运体抑制剂), 以防止荧光探针泄露到细胞外。】

3、染色步骤

以下是基于 96 孔板的 Calcein Deep Red 活细胞染色步骤, 仅作参考。具体实验请根据自身要求做调整。

a. 细胞准备: 于黑框/透明底的 96 孔微孔板内按照 100~10,000 个细胞/孔的量铺板。设置空白孔 (不含细胞的培养基)。【注意】: 每种细胞系需要根据实际情况来确认细胞增殖或细胞

毒性诱导的最佳细胞密度。增殖分析，细胞密度相对少些；毒性分析，起始细胞密度高些。建议 96 孔板的单孔体积为 100 μ L。

b. 药物处理：加待测药物到细胞内处理适当时间（比如 24h, 48h 或 96h）。设置空白孔（不含细胞的培养基），加入相应量的待测药物。【注意】：药物添加前可不用清洗细胞。然而，若是药物是血清敏感性，那在添加药物前需要吸掉生长培养基和血清因子。替换之细胞用无血清培养基培养。

c. 吸掉培养基。【注意】：探针加载前必须去除培养基。

d. 按照 100 μ L/孔（96 孔板）的量加入 Calcein Deep Red 染色工作液。

e. 室温或 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 1h。

【注意 1】：适当的孵育时间取决于细胞类型和使用的细胞浓度。每个实验建议进行孵育时间优化。

【注意 2】：对于悬浮细胞，探针孵育结束后，于 800rpm 离心 2min。

f. 用合适滤光片（Ex/Em= 643nm/663nm）的仪器进行荧光检测。【注意：如果荧光背景高，可在荧光信号检测前用含 2.5mM 丙磺舒的 HHBS 缓冲液替换 Calcein Deep Red 染色工作液。】

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 Red AM 对湿度非常敏感，粉末保存一定要保持干燥。Calcein Red 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 Red 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。

产品订购:

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