

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

产品编号	产品名称	包装规格
NBS2014-50ug	Calcein, AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色, 超纯级别)	50ug
NBS2014-250ug	Calcein, AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色, 超纯级别)	5x50ug
NBS2014-1mg	Calcein, AM, Ultra Pure Grade 钙黄绿素 (绿色, 超纯级别)	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, 本身不发荧光。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 ^{51}Cr 释放法所得结果一致。

由于死细胞缺乏酯酶, Calcein, AM 仅对活细胞进行标记, 这一特征使其非常适合用来检测细胞活力和细胞的短期示踪。常常与碘化丙啶 PI 联合使用, 因其仅能穿过死细胞膜的无序区域到达细胞核, 嵌入细胞的 DNA 双螺旋区域, 并产生红色荧光 (Ex/Em= 535nm/617nm), 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。用 545 nm 激发, 仅可观察到死细胞。结合这些特点, Calcein, AM 和 PI 经常被结合用作活细胞和死细胞的双重染色。

本品以粉末形式提供, 超纯级别 ($\geq 95\%$), 可与碘化丙啶 PI (货号: NBS1207-10MG) 联合使用, 进行活细胞和死细胞的双重染色。

产品特性:

- 1) CAS NO: 148504-34-1
- 2) 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;
- 3) 分子式: $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{23}$

- 4) 分子量: 994.86
- 5) 纯度: $\geq 95\%$ (HPLC)
- 6) 外观: 白色或浅黄色结晶粉末
- 7) 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。

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 5 μ M, 那么可配制 5mM 的储存液, 即往 50 μ g Calcein, AM (Mw: 994.86) 内加入 10 μ l 细胞培养级别的 DMSO 即可。

B, 20% Pluronic F-127 制备【可选】

称取 100mg Pluronic F-127 (CAT NO. NBS2009) 粉末中加入 500 μ l 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, AM 的工作浓度为 2-5 μ M。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 AM 储存液内来增强其水溶性。制备染色工作液前, 取一管 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%。加入 Pluronic F127 的 Calcein 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 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。

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, AM 染色工作液重悬细胞, 37°C孵育 15~30min。

【注意】: 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 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。用含合适滤光片 (Ex/Em= 490nm/515nm) 的荧光显微镜进行检测。

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-AM 对湿度非常敏感, 粉末保存一定要保持干燥。Calcein-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-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!

相关产品：

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