

Calcein, AM, Cell Permeant

Cat# CP0005

产品概述

Calcein, AM 是常用于大多数真核细胞活力测定的细胞渗透性荧光染料。Calcein AM 本身是非荧光的，由于其较强的疏水性而能够轻松穿透活细胞的细胞膜。进入活细胞后，细胞内酯酶切除了 AM 基团，将 Calcein, AM 转化为荧光的极性分子 Calcein，并被固定在细胞内。与其他活细胞标记试剂（如 BCECF-AM 和 CFDA）相比，由于其低细胞毒性，Calcein-AM 是最合适染色活细胞的荧光探针。Calcein 不会显著影响细胞的增殖或淋巴细胞趋化等细胞功能。

表 1 Calcein, AM 的光谱特性

产品编号	产品名称	分子量 (MW)	Ex (nm)	Em (nm)
CP0005	Calcein, AM, Cell Permeant	994.86	494	517

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Calcein, AM, Cell Permeant	CP0005-50µG	50 µg

储存方式

-25~-15°C；干燥避光存储。

使用说明

本方案仅供参考，具体实验方案需根据细胞类型、状态及其他条件进行优化。

制备 Calcein, AM 原液

- 将试剂放至室温后再开封。建议使用前进行短暂离心，以确保试剂在试剂管底部。
- 用 10 µL 高质量无水二甲基亚砜 (DMSO) 溶解 50 µg 染料，配置原液浓度至 5 mM。

【注】：1. Calcein, AM 暴露于水分时易水解，请放置于干燥环境中存储。

2. 建议原液及时使用；原液可分装保存，于-25°C~-15°C 避光干燥密封保存，避免反复冻融。

制备 Calcein, AM 工作液

- 使用 HBSS 缓冲液或合适的缓冲液或无血清培养基稀释 Calcein, AM 原液，制备成浓度为 1-10 µM Calcein, AM 工作溶液，并用涡流搅拌均匀。

【注】：1. 对于大部分细胞，钙黄绿素 Calcein, AM 的工作液浓度为 4-5 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。

2. 0.02%左右的非离子洗涤剂 Pluronic F-127 有时用于增加 AM 的水溶性。因其降低 Calcein-AM 的稳定性，只建议 Pluronic F-127 在配制工作液时加入，不建议将其加入储存液长期保存。

3. 尽可能降低探针使用浓度，可避免探针造成的细胞毒性。

4. Calcein-AM 工作液需现配现用，避免反复冻存。

荧光显微镜操作步骤

1. 将一瓶 50 µg Calcein AM 放至室温。
2. 使用 50 µL 高质量无水 DMSO 溶解 Calcein AM，制备 1 mM Calcein AM 原液。一旦制备好，Calcein AM 原液应在短时间内用于一系列实验。
3. 使用 10 mL 的 HBSS 缓冲液稀释 20 µL 的 1 mM Calcein AM 原液，得到约 2 µM Calcein AM 工作溶液。将溶液旋涡搅拌，以确保混合充分。
【注】：Calcein AM 水溶液易水解，应在一天内用完。
4. 准备待测细胞，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，可直接离心收集细胞。离心后均去上清，用 HBSS 缓冲液（或其他合适缓冲液）充分清洗细胞 2~3 次，以去除培养基中残留的血清。
5. 加入 1/10 细胞培养基体积的足量 Calcein AM 工作液重悬细胞。孵育条件均为 37°C 孵育 30 min。
6. 去除染色工作液，用 HBSS 缓冲液（或其他合适缓冲液）洗涤细胞 2~3 次，以去除任何多余的探针。并用 HBSS 缓冲液或合适缓冲液重悬细胞。
【注】：若待测细胞含有有机阴离子转运蛋白，可在步骤 5-7 中缓冲液中添加其抑制剂，如 0.5-2 mM probenecid 丙磺舒等。
7. 用荧光显微镜观察染色溶液中的样品。

流式细胞术操作步骤

1. 将一瓶 50 µg Calcein AM 放至室温。
2. 使用 50 µL 高质量无水 DMSO 溶解 Calcein AM，制备 1 mM Calcein AM 原液。
3. 然后使用 190 µL DMSO 稀释 10 µL 的 1 mM Calcein AM 原液，制成 50 µM 的 Calcein AM 工作溶液。此溶液在一天内有效。
【注】：Calcein AM 工作液，应在一日内使用。
4. 准备待测细胞，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，可直接离心收集细胞。离心后均去上清，用 HBSS 缓冲液（或其他合适缓冲液）充分清洗细胞 2~3 次，以去除培养基中残留的血清。
5. 取 1 mL 浓度为 $0.1-5 \times 10^6$ 个细胞/mL 的细胞悬液（培养基或缓冲液），加入 2 µL 工作液后混匀。
6. 室温避光孵育细胞 15-20 min。
7. 去除染色工作液，用 HBSS 或其他合适缓冲液洗涤细胞 2~3 次，以去除任何多余的探针。并用 HBSS 缓冲液或合适缓冲液重悬细胞。
【注】：若待测细胞含有有机阴离子转运蛋白，可在步骤 5-7 中的缓冲液中添加其抑制剂，如 0.5-2 mM probenecid 丙磺舒等。
8. 流式细胞术对染色细胞进行蓝色(~488 nm)激发和荧光发射(~517 nm)分析。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

