

产品说明书

Calcein AM 细胞活力检测试剂盒

产品货号: C6003S, C6003L

产品内容:

组分	C6003S (50T)	C6003L (1000T)
2 mM Calcein AM (无水 DMSO)	25 μ L	500 μ L

应用范围: 活细胞荧光示踪探针。

产品参数

Ex/Em: 494/517 nm (pH 8)

储存条件

-20°C 避光保存, 有效期见外包装。

产品介绍

Calcein AM 是一种对活细胞进行荧光标记的细胞染色试剂, 它可以穿透细胞膜进入细胞, 被细胞内的酯酶剪切为 Calcein。Calcein 带高度负电荷, 被滞留在正常细胞的胞质内, 发出明亮的绿色荧光。由于其低毒性, Calcein AM 可以用于研究细胞膜的完整性和长期细胞示踪实验。此外, 它也可被用于定量活细胞数。Calcein AM 细胞活力检测试剂盒是在细胞活力检测中, 用来定量活细胞数的终点检测法。测定所产生的荧光信号与样品中的活细胞数成正比 (图 1)。

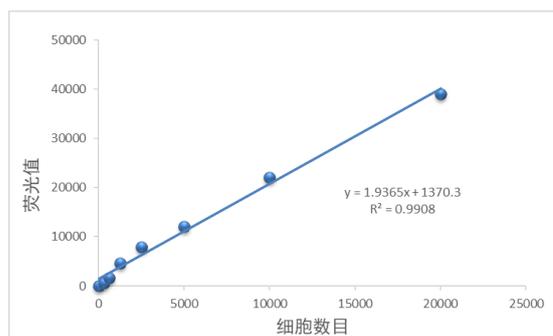


图 1. 用 Calcein AM Cell Viability Assay Kit 定量 HeLa 细胞数。细胞在检测前 24 h 接种于 96 孔板内。

使用方法

1. Calcein AM 工作液的配置

- (1) 从冷冻状态下取出 Calcein AM 储存液原管, 静置 30 min 使其恢复至室温。
- (2) 在 10 mL 的 PBS 缓冲液 (无血清培养基、HBSS 缓冲液、PBS 缓冲液等) 中加入 10 μ L 的 2 mM Calcein AM 储存液。

2. 细胞活力检测



2.1 荧光显微镜或荧光酶标仪检测

(1) 按实验要求将细胞接种于 96 孔培养板，推荐使用黑色板壁的培养板用于荧光检测。对于贴壁细胞，需在检测前一天铺板，并设定空白对照孔。

(2) 根据实验要求对细胞进行适当处理。

(3) 吸除每孔培养液，PBS 清洗细胞 1-2 遍。

注：培养基中的血清可能含有酯酶活性，会增强背景荧光。用 PBS 清洗细胞，以降低残留血清的影响。

(4) 每孔加入 100 μ L 的 2 μ M Calcein AM 工作液。

(5) 37°C 避光孵育 30 min 或者更长时间。

注：不同的细胞最佳孵育时间有所不同，根据所用细胞对孵育时间进行适当优化以得到更加理想的染色效果。

(6) 孵育结束后，吸除培养液，用 PBS 清洗 2-3 次，然后加入无血清细胞培养液后即可在荧光显微镜下观察或荧光酶标仪检测。在荧光显微镜下直接观察染色效果或在激发波长为 485 nm，发射波长为 530 nm 的荧光检测仪测量培养板内的荧光。

注：整个过程均需避光操作。

2.2 流式细胞仪检测

(1) 贴壁细胞胰酶消化后用培养液重悬，悬浮细胞直接使用，计数，取适量细胞 1000-1500 rpm 室温离心 5 min，弃上清，加入适当体积的 Calcein AM 染色工作液，使细胞为单细胞悬液，并且细胞密度为约 1×10^6 cells/mL，每个样品体积为 1 mL。

注：需要准备好仅含缓冲液的细胞样品用作流式细胞仪检测时的阴性对照，该缓冲液与配制 Calcein AM 染色工作液的缓冲液宜保持一致。

(2) 37°C 避光孵育 30 min。

注：不同的细胞最佳孵育时间有所不同，根据所用细胞对孵育时间进行适当优化以得到更加理想的染色效果。

(3) 孵育完成后，1000-1500 rpm 室温离心 5 min 收集细胞。每个样品加入 1 mL 缓冲液，轻轻重悬，1000-1500 rpm 室温离心 5 min 收集细胞。

注：本步骤可去除多余染料及可能引起荧光淬灭的试剂。

(4) 用 400 μ L 缓冲液重悬细胞。如有需要，也可进行进一步染色。染色后，将样品置于冰上，可以在 1 小时内进行流式细胞仪检测和分析。

注：整个过程均需避光操作。

(5) 注意使用仅含缓冲液的并且未经染色的细胞样品用于流式细胞仪的阴性对照设置。Calcein 的最大激发光波长为 494 nm，最大发射光波长为 517 nm。

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。

2. Calcein AM 遇到湿气会分解，使用后请在 -20°C 下密闭冷冻保存，防止水分进入。

