

Calcein AM (钙黄绿素 AM)

产品介绍

Calcein-AM 是一种对活细胞进行绿色荧光 (Ex: 490 nm, Em: 515 nm) 标记的细胞染色试剂。在传统的 Calcein (钙黄绿素) 基础上引入乙酰甲氧基甲酯 (AM) 基团, 增加了疏水性, 使其能够轻易穿透活细胞膜。Calcein-AM 本身不发光, 进入细胞后被细胞内的酯酶剪切形成膜非渗透性的极性分子 Calcein, 从而被滞留在细胞内并发出强绿色荧光。由于死细胞缺乏酯酶, Calcein AM 仅用于对活细胞的细胞生存能力测试和短期标记。与其它同类试剂 (如 BCECF-AM 和 CFDA) 相比 Calcein AM 细胞毒性极低, 不会抑制任何的细胞功能, 如细胞增殖和淋巴球的趋化性等, 是最适合用于活细胞染色的荧光探针。

作为核染色染料的碘化丙啶不能穿过活细胞的细胞膜, 它穿过死细胞膜的无序区域而到达细胞核, 并嵌入细胞的 DNA 双螺旋从而产生红色荧光 (Ex: 535 nm, Em: 617 nm), 因此 PI 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。而用 545 nm 激发, 仅可观察到死细胞。根据以上特点, Calcein-AM 可与碘化丙啶 (PI) (Cat No. P4034) 联合使用, 用于活细胞和死细胞的同时检测或者直接购买 UE 提供的 Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒 (Cat No. L6037)。由于不同细胞系的最佳染色条件不同, 建议 Calcein AM 和 PI 的最适浓度也相应做出调整。

应用范围

活细胞染色、细胞成像、细胞增殖和功能、细胞示踪、细胞计数

产品货号

C4041

储运条件

-20℃避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

稳定性强: 荧光亮度强, 发光时间久, 不易淬灭;

使用方便: 可搭配我司其它试剂使用, 方便灵活。

产品组分

组分	C4041
Calcein AM (钙黄绿素AM)	1 mg

产品参数

外观: 可溶于DMSO的灰白色固体

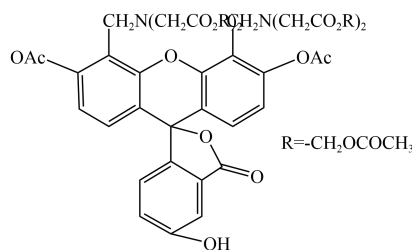
CAS号: 148504-34-1

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

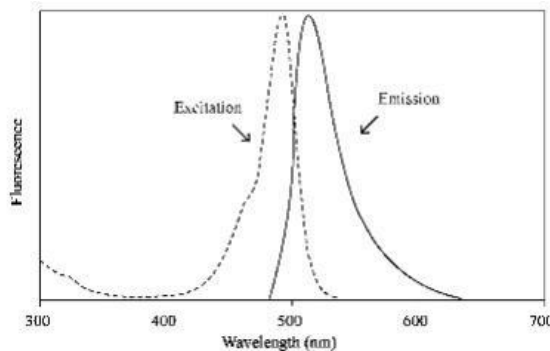
分子式: C₄₆H₄₆N₂O₂₃

分子量: 994.9

分子结构图:



光谱图:



注意事项

1. Calcein AM 的酯键遇到湿气会分解, 使用后请在-20℃下密闭冷冻保存, 防止水分进入。
2. Calcein AM 储备液稀释后请及时使用, 尽量现配现用。
3. 由于 Calcein AM 在 PBS 等水溶液中不稳定, 配制成工作液后需尽快使用。
4. 培养液中的血清和酚红对 Calcein AM 的染色有一定的影响, 建议在加入 Calcein AM 工作液前充分洗涤细胞。
5. Calcein AM 标记的细胞, 荧光均匀, 而且对短期细胞迁移示踪效果非常好, 但荧光的持续时间与细胞类型、培养条件等因素相关, 一般在几小时之内, 而且有时也会被某些类型细胞迅速外排。如果需要长时间标记细胞, 请使用 CFDA SE (C6034) 等荧光探针。
6. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作方法

1. 用 DMSO 制备 1 mM 的 Calcein AM 溶液, 并用 PBS 将其稀释制成 1~50 μM 的 Calcein AM 溶液。

注: 不同的细胞适用的 Calcein AM 浓度不同, 2 μM 的 Calcein AM 适用的细胞有 NIH₃T₃、PtK₂、HeLa、MDCK 等。

2. 染色 HeLa 等贴壁细胞时, 先用 Trypsin-EDTA 等消化细胞, 制备成细胞悬液。

3. 将细胞悬液离心 3 min (1000 rpm)。

4. 去除上清液, 加入 PBS 缓冲液, 细胞数量调整至 10⁵~10⁶/mL, 再用移液器充分混匀。

注: 由于培养基中的血清等含有酯酶, 会分解 Calcein AM, 导致空白背景数值上升, 所以需要离心数次, 用 PBS 洗涤数次直到完全洗净。

5. 在 200 μL 细胞悬液中加入 50 μL 稀释后的 Calcein AM 溶液, 在 37℃下孵育 15 min。

6. 在盖玻片上滴加适量的染色的细胞溶液。用 490 nm 激发波长, 515 nm 发射波长滤光片的荧光显微镜观察细胞。

注: 如果 Calcein AM 很难进入细胞, 可以使用表面活性剂处理, 如 Pluronic F127。

FAQ

1. 问：细胞追踪有很多产品，该如何选择？

答：首先确定追踪细胞的时间，然后考虑染料结合机制。

(1)钙黄绿素染料（C4041）标记均匀且对短期细胞迁移示踪效果极佳，但也会被某些类型细胞迅速外排。

(2)亲脂性的花青素染料，如 DiI (D4010)，DiO (D4007)，DiA (D4059)，DiD (D4019)，DiR (D4006)能标记细胞膜而不破坏其功能，并且能持续更长时间，但如果发生膜融合则可能会染上其他细胞。此外，它们还会在透化过程中丢失。

(3)Cell Tracker 染料（C4060）更有利于长期标记，其带有温和的氯甲基反应基团使之能够与细胞组分共价结合。

(4)CFDA SE（C4070）也能共价地结合于细胞组分。

在所有列出的试剂中，细胞内保留与否取决于细胞分裂的速率和细胞的固有特性（主动外排，膜和蛋白质的周转率等）。其中共价结合试剂比非共价结合的试剂展现出更长的保留时间。

2. 问：用 Calcein, AM 标记了细胞,但是第二天成像时,没有来自 Calcein, AM 的荧光,为什么？

答：Calcein, AM 是细胞追踪和普通细胞质染色的良好选择，然而，它不与任何东西结合，可能会在几个小时内被主动抽出细胞，Calcein, AM 在活细胞内的保留取决于细胞类型和培养条件的固有特性，对于长期成像，您可能需要考虑到反应性细胞质染色，如 CFDA, SE 染料。

3. 问：是否有染料，将其在活细胞中加入，，在高浓度下可以自淬灭，但如果细胞死亡，染料将被释放并取消淬灭？

答：有的，这通常是通过 Calcein AM 或 FDA（荧光素二乙酸酯）完成的，这些染料在被酯酶分解之前不会发出荧光，经酯酶修饰后，在非常高的浓度下、会自我淬灭，一旦质膜破裂或细胞死亡，染料将被释放到细胞外介质中，无法淬灭，必须优化浓度和培养时间，以获得足够的淬灭效果。

4. 问：当我用 Calcein AM 对细胞进行染色时，细胞经过固定处理后信号就消失了，为什么？

答：Calcein AM 扩散到细胞中，“AM”部分由细胞酯酶裂解，随后染料分子的荧光信号可以在细胞质中被观测到，但不结合细胞组分。这意味着它们能够为“整个细胞”染色，也意味着染料不能通过醛类固定剂进行交联，因此染料会在固定时丢失，此外，质膜的任何干扰（例如去垢剂或胰蛋白酶处理）都会导致染料从细胞中渗漏。

5. 问：实验中一个细胞迁移研究大约 4 h，需要用染料荧光标记细胞，是否有相关染料推荐？

答：Calcein AM 和 FDA（荧光素二乙酸盐）是用于该应用的一些染料的实例，由于这些染料不与任何细胞组分结合或共价连接，它们可能具有短的保留时间，因为一些细胞类型可能主动将染料从细胞中流出。

相关产品

产品货号	产品名称
P4034	Propidium Iodide (碘化丙啶, PI)
P4055	Propidium Iodide (碘化丙啶, PI溶液, 1 mg/mL)
L6037	Live & Dead™动物细胞活力/毒性检测试剂盒 (Calcein AM, PI)
C4041	Calcein AM (钙黄绿素AM)
L6023	Live & Dead™动物细胞活力/毒性检测试剂盒 (Calcein AM, EthD-I)

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
C4041	Calcein AM (钙黄绿AM)	染料固体粉末，保质期长
C6003	Calcein AM细胞活力检测试剂盒	液体标准浓度，使用方便
L6023	Live & Dead™动物细胞活力/毒性检测试剂盒 (Calcein AM, EthD-I)	搭配细胞死活染料PI，检测细胞活力
L6037	Live & Dead™动物细胞活力/毒性检测试剂盒 (Calcein AM, PI)	搭配细胞死活染料EthD-I，检测细胞活力