

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 本身不发荧光, 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, 是最适用于活细胞染色的荧光探针。

如需同时检测活细胞和死细胞, 可将 Calcein AM 与 PI (Cat: P4034) 联合使用, 或直接购买 UE 提供的 Calcein-AM/PI 活细胞/死细胞双染试剂盒 (Cat: 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℃干燥避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

批间差小: 公司自研产品, 批间差稳定;

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

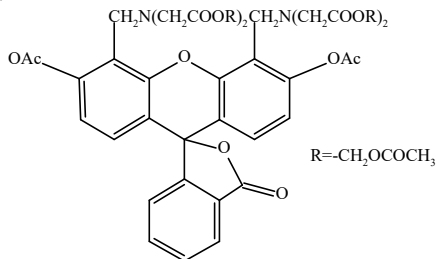
Ex/Em: 494/517 nm (pH=8)

CAS号: 148504-34-1

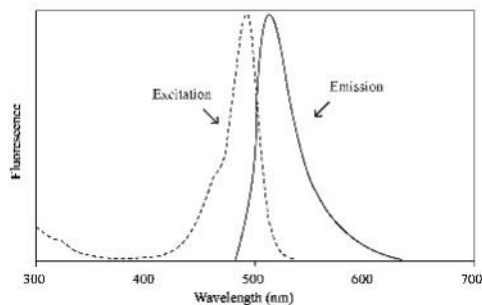
分子式: C₄₆H₄₆N₂O₂₃

分子量: 994.9

分子结构图:



光谱图:



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的酯键遇到湿气会分解, 使用后请在-20℃下密闭干燥保存, 防止水分进入。
3. Calcein AM储备液稀释后请及时使用, 尽量现配现用。
4. 由于Calcein AM在水溶液中不稳定, 配制工作液后需尽快使用。
5. 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。
6. 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 (Cat: C6034) 等荧光探针。
7. 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。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材
离心管
2. 试剂
(1) 无水 DMSO (2) PBS/HBSS/AM 酯通用 Assay buffer (L6028)
3. 仪器
荧光显微镜或流式细胞仪

操作方法

1. Calcein AM 储备液准备: 室温复温 1 管 1mg 染料后, 加入 1.005 mL 的无水 DMSO, 溶解混匀, 配制橙 1 mM Calcein AM 储备液。
2. Calcein AM 工作液准备: 用 PBS 或 AM 酯通用 Assay buffer (L6028) 将其稀释制成 1~50 μM 的 Calcein AM 工作液。
注: (1) 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 NIH/3T3、PtK2、HeLa、MDCK 等。
(2) AM 酯通用 Assay buffer (L6028) 有利于 AM 酯荧光探针的装载和荧光信号的维持, 若贴壁细胞易脱落且敏感, 建议使用该 buffer 配制上述染色工作液。
3. 收集细胞 (以 HeLa 细胞为例): 去除培养基, 1×PBS 清洗细胞, 胰蛋白酶消化细胞成单细胞悬液。收集细胞悬液于 4℃ 离心机, 300 xg 离心细胞 5 min, 弃上清。1×PBS 清洗细胞 1 次。
4. 去除上清液, 加入 PBS 缓冲液, 细胞数量调整至 5-10×10⁵ 个/管, 300 xg 离心细胞 5 min, 弃上清。
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. 加入 250 μL Calcein AM 工作液重悬细胞, 在 37℃ 下孵育 15 min。
6. 孵育完成后, 可直接进行荧光显微镜或流式细胞仪检测 (Calcein AM 为绿色荧光, Ex/Em=494nm/517nm)。

FAQ

1. 问：细胞追踪有很多产品，该如何选择？

答：可以先确定需要追踪细胞的时长，再结合染料的结合机制选择：

(1) 钙黄绿素染料（C4041）标记均匀，对短期细胞迁移示踪效果极佳，但会被部分细胞迅速外排。

(2) 亲脂性花青素染料，如（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）更适合长期标记，它带有温和的氯甲基反应基团，能够与细胞组分共价结合。

(4) CFDA SE(4070)也可以和细胞组分共价结合。

上述所有试剂在细胞内的保留情况，取决于细胞分裂速率和细胞固有特性，包括主动外排能力、膜及蛋白质周转率等。共价结合试剂的细胞内保留时间明显长于非共价结合试剂。

2. 问：用 Calcein AM 标记细胞后，第二天成像时检测不到 Calcein AM 的荧光，是什么原因？

答：Calcein AM 适合用于细胞追踪和普通细胞质染色，但它不与任何细胞组分结合，可能会在数小时内被主动排出细胞。它在活细胞内的保留效果受细胞类型和培养条件影响，如果要做长期成像，可以考虑选择 CFDA SE 这类反应性细胞质染色染料。

3. 问：有没有这样一种染料：加入活细胞后，高浓度下会发生自淬灭，当细胞死亡染料释放后，淬灭就会解除？

答：有的，这类实验一般用 Calcein AM 或 FDA（荧光素二乙酸酯）完成。这两种染料在被酯酶分解前不会发出荧光，经酯酶修饰后，在极高浓度下会发生自淬灭；一旦质膜破裂、细胞死亡，染料就会释放到细胞外培养基中，淬灭随之解除。需要注意的是，要获得理想的淬灭效果，必须提前优化染料浓度和孵育时间。

4. 问：我用 Calcein AM 对细胞染色后，细胞经过固定处理荧光信号就消失了，这是为什么？

答：Calcein AM 扩散进入细胞后，“AM”基团会被细胞内的酯酶裂解，此时染料的荧光信号就可以在细胞质中观察到，但染料本身不会结合细胞组分。这个特性让它可以实现“全细胞”染色，但也意味着染料会在醛类固定剂交联的过程中流失。此外，任何对质膜的干扰，比如去垢剂处理或胰蛋白酶处理，都会导致染料从细胞内渗漏出去。

5. 问：我要做时长约 4 小时的细胞迁移实验，需要用荧光染料标记细胞，有没有合适的染料推荐？

答：Calcein AM 和 FDA（荧光素二乙酸盐）都适用于该实验。但这两种染料都不会与细胞组分结合，也不存在共价连接，因此在部分会主动外排染料的细胞中，保留时间较短。

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
C4041	Calcein AM（钙黄绿素 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）	EthD-I 的 DNA 亲和性高于 PI
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 PI，检测细胞活力
L6029	Live & Dead™ 动物细胞活力/毒性检测试剂盒 Plus（Calcein AM, EthD-I）	在 L6023 上优化增加了 AM Assay buffer
L6038	Live & Dead™ 动物细胞活力/毒性检测试剂盒 Plus(Calcein AM, PI)	在 L6037 上优化增加了 AM Assay buffer

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）
L6029	Live & Dead™ 动物细胞活力/毒性检测试剂盒 Plus（Calcein AM, EthD-I）
L6038	Live & Dead™ 动物细胞活力/毒性检测试剂盒 Plus(Calcein AM, PI)
L6028	AM 酯通用 Assay buffer